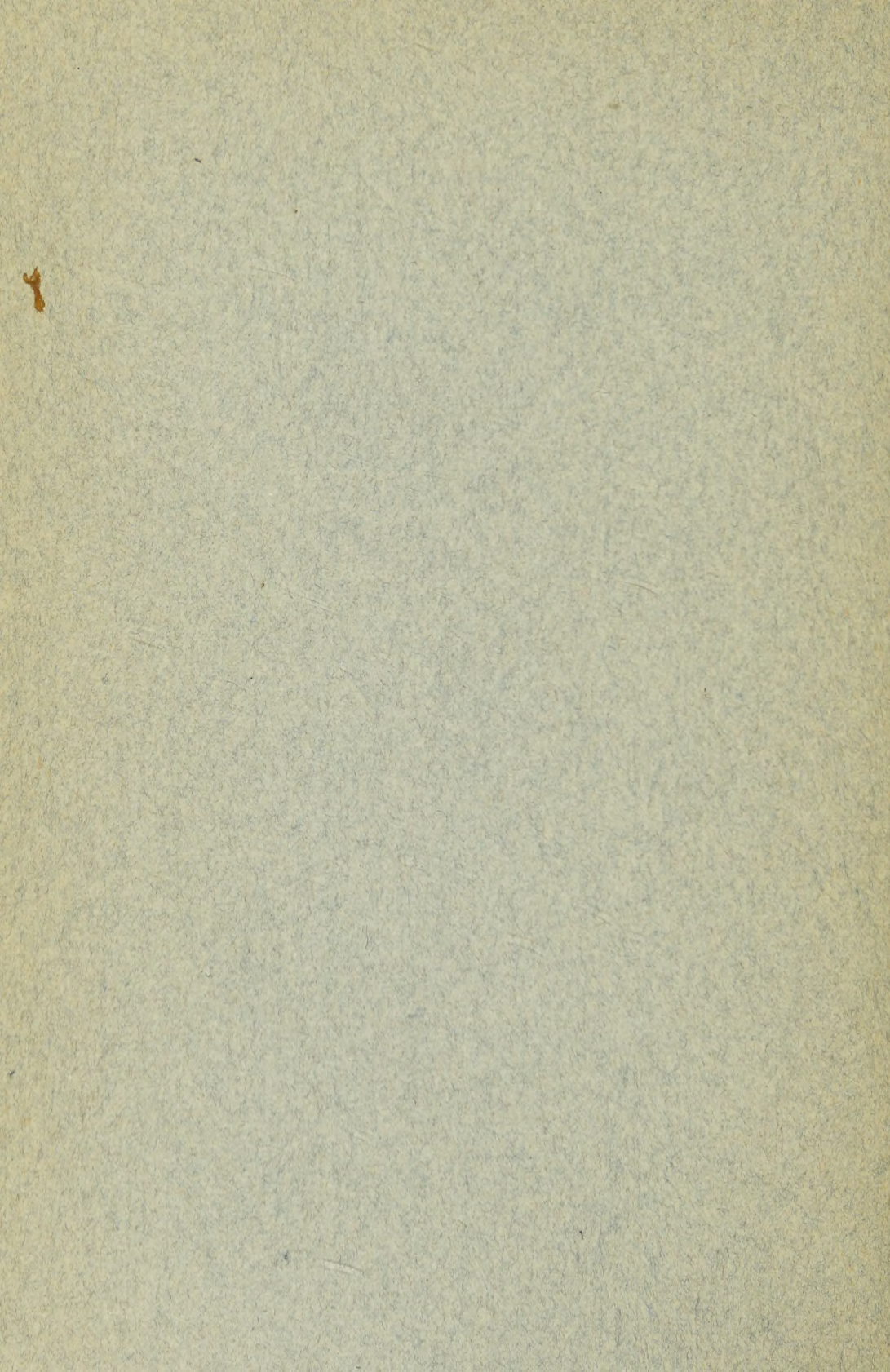


**OVER HET OPSPOREN VAN PROTOZOËN
EN EIEREN VAN ENKELE WORMSOORTEN
IN DE MENSELIJKE FAECES**

One Medical Library

One Medical Library

J. BIJLMER



OVER HET OPSPOREN VAN PROTOZOËN
EN EIEREN VAN ENKELE WORMSOORTEN
IN DE MENSELIJKE FAECES

*Dit proefschrift werd bewerkt in het Instituut voor Tropische Hygiëne
te Amsterdam onder leiding van wijlen Prof. Dr. S. L. Brug.*

Promotor: Prof. Dr. J. J. van Loghem.

OVER HET OPSPOREN VAN
PROTOZOËN EN EIEREN VAN ENKELE
WORMSOORTEN
IN DE MENSELIJKE FAECES

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE
UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM, OP GEZAG
VAN DE RECTOR MAGNIFICUS Dr P. N. U.
HARTING, HOOGLERAAR IN DE FACULTEIT
DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, IN HET
OPENBAAR TE VERDEDIGEN IN DE AULA DER
UNIVERSITEIT OP DONDERDAG 19 JUNI 1947
DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

JOHANNES BIJLMER
Geboren te Wara (Soemba, N.O.I.)

MCMXLVII
DE ACADEMISCHE BOEKWINKEL
P. H. VERMEULEN
AMSTERDAM



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AAN MIJN OUDERS
AAN MIJN VROUW

INHOUD

Hoofdstuk	Blz.
I. INLEIDING. BELANG VAN HET ONDERZOEK VOOR DE KLINIEK	1
II. GESCHIEDKUNDIG OVERZICHT DER VERSCHILLENDE ONDERZOEKINGSMETHODEN	13
III. VOORZORGEN	28
IV. DE GEVOLGDE TECHNIEK	32
V. EIGEN ONDERZOEK	38
Concentratiemethoden.	
Het laxeren.	
Wormeieren.	
VI. RESULTATEN EN BESCHOUWING	64
VII. ENIGE BIJKOMSTIGE VONDSTEN	69
Infectieindex der Amsterdammers.	
Tricercomonas intestinalis.	
Bosmancysten.	
Kristallen van Charcot-Leyden in Blastocystis hominis.	
SUMMARY	77
RÉSUMÉ	81
ZUSAMMENFASSUNG	85
GECEITEERDE LITERATUUR	89

HOOFDSTUK I

INLEIDING

BELANG VAN HET ONDERZOEK VOOR DE KLINIEK

Het doel van dit onderzoek was om na te gaan welke methode het meest geschikt is voor het opsporen van een protozoëninfectie van de menselijke darm. Hierbij werd vooral rekening gehouden met de mogelijkheden die de huisarts ten dienste staan, daar deze uit de aard der zaak geheel andere eisen stelt dan de parasitoloog met een laboratorium. Zal de laatste misschien prijs stellen op het meest effectieve onderzoek, de huisarts zal vooral letten op de eenvoud van een methode. Waar een goed geoutilleerde kliniek over alle gewenste technische hulpmiddelen kan beschikken met geschoold personeel, zal de praktiserende arts met eenvoudige middelen toe moeten komen en bovendien mag het hem niet te veel tijd kosten. Is aan deze twee voorwaarden niet te voldoen, dan zal hij er niet aan beginnen en kan hij er ook niet aan beginnen. Overigens spreekt het van zelf, dat ook de kliniek gebaat is bij een eenvoudig en weinig tijdrovend onderzoek, indien dit efficient genoeg is.

Hiertoe werden nu verschillende onderzoeksmethoden met elkaar vergeleken. Daar de concentratiemethode van Faust, die zich in een steeds groter wordende populariteit mag verheugen, ook geschikt zou zijn voor het opsporen van nematoden infecties, is gepoogd ook de wormen in het onderzoek te betrekken. Aanvankelijk bood dit niet veel vooruitzicht, daar in Amsterdam behalve van Oxyuris, bijna geen besmettingen met wormen voorkomen. Na de bevrijding van Indië echter kwam een stroom van repatriërenden naar ons land en deze herbergden vaak *Ancylostoma duodenale* of *Necator americanus* en *Ascaris lumbricoides*. Van deze mensen kon een voldoende aantal faecesmonsters verkregen worden om enig inzicht

te verkrijgen in de resultaten van Faust's methode betreffende de eieren dezer wormen.

In de tropen valt het onderzoek naar de dierlijke darmparasieten onder de bevoegdheid van de huisarts. In Indië is het een vereiste van elke patiënt met darmklachten de ontlasting na te kijken op *Entamoeba histolytica* en volgens de moderne inzichten ook op *Lamblia intestinalis*. Daarnaast neemt het onderzoek naar wormeieren een belangrijke plaats in. Het ontlastingonderzoek is dus in Indië een vaak voorkomende noodzakelijkheid en bijgevolg is er de arts veel aan gelegen een goede, eenvoudige werkwijze tot zijn beschikking te hebben.

In Nederland zal de huisarts gewoonlijk genoeg nemen met een onderzoek naar *Ascaris* of *Oxyuris* eieren, daar amoebendysenterie hier niet of uiterst zelden voorkomt. Wel wordt steeds meer *Lamblia intestinalis* als de veroorzaker van buikklachten bij kinderen beschouwd, maar het aantonen van deze parasiet wordt nog tot specialistenwerk gerekend en over het algemeen menen dezen dat via de, voor de patiënt zeer onaangename, duodenumsondage te moeten doen, terwijl juist bij deze parasiet vaak één blik in een goed gemaakt faeces preparaat de aanwezigheid van de cysten dezer diertjes doet constateren.

Nu vele landgenoten uit de Japanse interneringskampen in het vaderland terugkomen, is ook hier het faecesonderzoek op *Entamoeba histolytica* actueel geworden.

Om welke organismen gaat het eigenlijk?

In de eerste plaats natuurlijk om *Entamoeba histolytica*, de veroorzaker der amoebendysenterie. Dat deze parasiet pathogeen kan zijn daar is een ieder het wel over eens. Verdeeld zijn de meningen echter over het feit of hij al dan niet obligaat pathogeen is en of na het vast stellen ener infectie altijd een therapie moet volgen, of eventueel zelfs elke infectie uit het oogpunt der volksgezondheid actief moet worden opgespoord. Welk standpunt men hierover inneemt hangt af van de opvatting, die men huldigt omtrent de levenscyclus van deze parasiet.

Kuennen en Swellengrebel (1913) lanceerden de hypothese, dat we bij *Entamoeba histolytica* drie stadia moeten onderscheiden¹⁾, te weten:

¹⁾ Zie ook Mathis en Mercier (1916).

1. Het histolytische stadium: grote vegetatieve vormen, die als parasieten in de darmwand leven, met het bloed naar de verschillende organen kunnen worden vervoerd en die in staat zijn rode bloedlichaampjes te verorberen. Zij vermenigvuldigen zich door deling.
2. Het minuta stadium: kleine vegetatieve vormen, die als commensalen in het darmlumen leven, geen rode bloedlichaampjes opnemen en die verraderlijk veel op de vegetatieve vormen van *Entamoeba coli* lijken. Ook zij vermenigvuldigen zich door deling.
3. Het cyste stadium: onbewegelijke afgekapselde vormen, die voor de overbrenging naar een andere gastheer moeten zorg dragen. De cysten vermenigvuldigen zich niet; zij ontstaan uit de minuta-vormen.

Daarbij veronderstelden zij, dat het minutastadium essentieel is en de histolyse incidenteel, met andere woorden, dat men besmet kan zijn met *Entamoeba histolytica* zonder daar nadelige gevolgen van te ondervinden.

Deze theorie wordt door de Nederlandse onderzoekers algemeen aanvaard. Vooral Engelsen en Amerikanen houden er echter een andere opvatting op na.

D o b e l l (1919), één der grootste autoriteiten op dit gebied, beschouwt het minuta stadium slechts als een kort overgangsstadium tussen de histolytische vorm en de cyste en spreekt van prae-cystisch stadium. Deze prae-cysten zouden zich niet vermenigvuldigen. Er moeten dus altijd histolytische vormen aanwezig zijn, bijgevolg ook darmlaesies, al kunnen die dan ook zó klein en oppervlakkig zijn, dat ze geen klachten geven en zelfs bij de sectie onvindbaar zijn. In 1931 heeft D o b e l l na consciëntieuze proeven bij apen kunnen waarnemen, dat bij deze dieren het minuta stadium als verondersteld door K u e n e n en S w e l l e n g r e b e l wel degelijk voorkomt en dat *Ent. histolytica* bij apen, die hij als identiek met die bij de mens beschouwt, praktisch altijd een onschuldige commensaal is. Hij neemt nu ook aan dat *Ent. histolytica* bij de mens soms als commensaal leeft¹⁾.

Onder de Amerikanen staat bijv. C r a i g (1944) echter nog volstrekt op het standpunt, dat *Entamoeba histolytica* een obligaat pathogene parasiet is en talloze vage klachten, zowel maagdarm- als neurogene, beschouwt hij als het gevolg der aanwezigheid van

¹⁾ Zie ook K n o w l e s (1926) en K e s s e l (1928).

dit protozoön. Meer dan de helft der geïnfecteerden zouden klachten hebben en altijd zouden laesies in de darm voorkomen. Hij wordt in deze theorie gesterkt doordat de meeste geïnfecteerde personen een positieve complementbindingsreactie geven met een antigeen gemaakt van histolytica-amoeben of cysten. Verder haalt hij aan dat Faust (1941) bij 202 secties na een dodelijk ongeval, in ruim 6 % der gevallen voor het merendeel zeer kleine en oppervlakkige darmwandlaesies vond, waarin *Entamoeba histolytica* werden aangetroffen. Faust zelf echter taxeert het percentage infecties voor de U.S.A. op ± 20 en in New Orleans, waar het boven aangehaalde onderzoek plaats vond zal de infectie-index van wege het subtropische klimaat dan nog wel boven dit gemiddelde liggen (1942).

Diametraal hiertegenover staat Reichenow (1926) met zijn opvatting, dat de normale levenswijze van *Entamoeba histolytica* de saprozoische is. Het indringen in de weefsels zou afhankelijk zijn van allerlei voor de menselijke fysiek ongunstige factoren.

Een soort middenweg kiest Brumpt (1925) die twee morfologisch niet van elkaar te onderscheiden soorten aanneemt: 1. de pathogene *Entamoeba histolytica* en 2. de onschuldige *Entamoeba dispar*. De eerste zou voornamelijk in de tropen voorkomen en de laatste in de gematigde en koele klimaatzônes de boventoon voeren.

Een tweede strijdvraag is het al of niet bestaan van een afzonderlijke soort *Entamoeba tenuis* (s. *Entamoeba hartmanni*). De Angelsaksers beschouwen deze vrij algemeen als een klein *Entamoeba histolytica* ras, dat dus bijgevolg pathogeen is, al geven zij dan toe dat de kleine rassen als regel minder virulent zijn (Meleney en Frye, 1933). De Nederlanders beschouwen *Entamoeba tenuis* ook om morfologische redenen als een afzonderlijke soort (Kuenen en Swellengrebel, 1917; Brug, 1917a) en nemen aan, dat deze soort niet of hoogstens zeer weinig pathogeen is. Enige reserve wordt nog in acht genomen om *Ent. tenuis* als volkomen onschuldig te bestempelen, daar het aan sommigen gelukt is om katten er mee te infecteren en voor deze dieren bleken ze wel enigszins pathogeen, zij het ook lang niet in die mate als *Ent. histolytica* (Spector, 1936; Frye en Meleney, 1937 en 1938). Het ligt buiten het bestek van dit proefschrift om uitvoerig het voor en tegen van al deze opvattingen uit te meten. Het zij slechts vermeld, dat ik de theorie

van Kuenen en Swellengrebel volg en Ent. tenuis als een aparte species en als voor de kliniek weinig belangrijk beschouw ¹⁾, terwijl het al of niet behandelen van een toevallig gevonden Ent. histolytica infectie van de omstandigheden zal afhangen.

Ten tweede gaat het om *Lamblia* (*Giardia*) *intestinalis* die vooral bij kinderen veel voorkomt. De meningen over de pathogeniteit van deze parasiet zijn nog sterk verdeeld. Wel wordt hij steeds algemener beschouwd als de veroorzaker van buikklachten. Een afdoend bewijs daarvoor is echter nog niet geleverd en Reichenow (1931) oppert de mogelijkheid, dat na voortgezet onderzoek niet *Lamblia* de oorzaak der klachten zal blijken te zijn, doch integendeel juist de afwijkingen in de tractus digestivus gunstige levensvoorwaarden voor deze (en eventueel ook voor andere soorten) flagellaat scheppen ²⁾.

In de derde plaats is er dan *Balantidium coli*, die evenals Ent. histolytica een levensgevaarlijke dysenterie kan veroorzaken.

Als vierde komen ten slotte de Coccidiën. De zeer zeldzame *Isospora belli* (in de literatuur meest beschreven onder de naam *Isospora hominis*) is hiervan de enige zekere parasiet bij de mens. Over de pathogeniteit van de *Isospora* is het laatste woord nog niet gesproken. Vele auteurs geloven, dat dit coccidium de oorzaak van diarree kan zijn. Aangezien bij onze huisdieren vele ziekteverwekkers tot de coccidiën behoren ligt deze mogelijkheid ook zeker voor de hand. Vrij overtuigend lijkt het geval door Connal in 1922 beschreven, waarbij iemand bij ongeluk een lading rijpe oöcysten van *Isospora hominis* in zijn gezicht kreeg, een week later buikloop en kort daarop oöcysten in de ontlasting. Men doet dus verstandig de *Isospora* met argwaan te bejegenen.

Dit waren de pathogene protozoën. Daarnaast staan nog de wormen met als belangrijkste *Ancylostoma duodenale* en *Necator americanus*. Verder volgen als nematoden: *Strongyloides* (*Anguillula*) *stercoralis*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichocephalis dispar* (*Trichuris-trichiura*) (onschuldig) en *Enterobius* (*Oxyuris*) *vermicularis*. Vervolgens zijn er de Cestoden en Trematoden.

De niet pathogene parasieten zijn voor de medicus practicus alleen

¹⁾ Zie ook Nöller (1921); Hinshaw en Showers (1934).

²⁾ Zo vond Deschiens (1924) dat *Lamblia* zeer veel koolhydraten in opgeloste vorm opneemt; misschien is een dyspepsie daarom voor *Lamblia* een gunstige omstandigheid. Bovendien is het voedsel van kinderen rijk aan koolhydraten.

in zoverre van belang, dat hij ze als zodanig moet kunnen onderkennen. Bij de protozoën zijn dit: *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, *Endolimax williamsi* (s. *Iodamoeba bütschlii*), *Dientamoeba fragilis*, *Chilomastix mesnili*, *Trichomonas intestinalis* en de weinig voorkomende *Enteromonas hominis* en *Embadomonas intestinalis*.

Hierbij zij nog vermeld, dat er ook auteurs zijn, die alle flagellaten en sommige die zelfs alle protozoën als pathogeen beschouwen¹⁾.

Wat de morfologie van de darmprotozoën en wormeieren betreft, die wordt bekend verondersteld en overigens wordt daarvoor verwezen naar de handboeken op dat gebied²⁾.

Ent. histolytica komt overal ter wereld voor, maar zal in de gematigde en koude zônes nooit of hoogst zelden dysenterie veroorzaken. Dit was de aanleiding voor Brumpt om het bestaan van een aparte niet pathogene soort, *Ent. dispar*, aan te nemen. Deze opvatting wordt echter door slechts zeer weinigen aanvaard, immers ook in de tropen kennen we meer gezonde mensen die *Ent. histolytica* herbergen dan zieke en patiënten met amoeben-dysenterie knappen aanstonds op als zij naar een koel klimaat worden gezonden (Bax, 1924). De meeste clinici nemen daarom aan dat de pathogeniteit van *Ent. histolytica* afhankelijk is van klimatologische en interne factoren, terwijl ook de virulentie der amoeben zelf een belangrijke rol speelt (Brug, 1925; Snijders, 1929).

Dobell en Jepps (1918) en velen met hen (o.a. Wenyon en O'Connor, 1917 en Ujihara, 1914) onderscheiden vijf verschillende rassen van dysenterie-amoeben, alleen van elkaar te onderscheiden door hun gemiddelde grootte. De kleinere rassen zouden over het algemeen minder pathogeen zijn. Het is echter de

¹⁾ Whittingham bijv. (1923) beschouwt alle flagellaten als pathogeen, Castex en Greenway (1925) en Smithies (1926) houden alle protozoën voor verdacht maar toch ook vooral de flagellaten, terwijl Barrow en Woodard (1931) en Rothman en Epstein (1941) meer de nadruk op de amoeben leggen en McIntosh (1931) alle protozoën er van beschuldigt een vitamine B deficiëntie te kunnen veroorzaken. Daarnaast verdenkt Wenrich (1937) *Dientamoeba fragilis* van pathogeniteit.

²⁾ Brug (1935); Brumpt (1936); Dobell (1919); Dobell en O'Connor (1921); Craig en Faust (1945); Rodenhuis (1921); Sluiter, Swellengrebel en Ihle (1942); Wenyon (1926); Doflein en Reichenow (1929). Zie ook de artikelen in Parasitology van Dobell (1928—1943).

vraag of die indeling in rassen wel recht van bestaan heeft (R o d e n h u i s, 1924; S m i t h, 1918). Voor de praktijk heeft het in ieder geval geen betekenis als men de boven reeds genoemde indeling volgt van een pathogene soort Ent. histolytica naast een niet of zeer weinig pathogene soort Ent. tenuis.

Ook *Lambliia intestinalis* komt overal voor en bij kinderen zelfs in vrij hoge percentages. Deze parasiet wordt ook in de koele klimaat-zônes van pathogeniteit beschuldigd en is dus eventueel voor alle artsen van belang.

Balantidium coli is een bij de mens vrij zeldzame parasiet; bij het varken is het een gewone commensaal. Een vereiste voor de besmetting is contact met varkens excrementen, omdat bij varkens wel en bij de mens slechts bij hoge uitzondering cysten worden gevormd. In Nederland komt hij bij de mens uiterst zelden voor en in Indië, waar de meeste inheemsen Mohammedaan zijn, voor wie het varken een onrein dier is, heel weinig (B r u g, 1919a; 1946). Door zijn grootte (100 μ) en bewegelijkheid levert hij voor de herkenning niet veel moeilijkheden op.

Nog zeldzamer zijn de *Coccidiën*. De meeste gevallen uit de literatuur zijn afkomstig uit de kuststrook om het oostelijke bekken van de Middellandsche Zee. In Nederland is er nog nooit één gevonden, in Indië komt men ze een enkele keer tegen (E s s e d, 1939; B r u g, 1922a). Het aantal oöcysten in de ontlasting is over het algemeen maar klein, vaak vindt men er niet meer dan één. Daarbij is de infectie van tijdelijke aard en worden de cysten nooit langer dan gedurende een paar weken gevonden, dikwijls treft men ze slechts éénmaal aan (M a g a t h, 1935; H e r r l i c h en L i e b m a n n, 1943). Overigens trekken deze parasieten tot nu toe meer de belangstelling van de protozoöloog dan van de medicus, daar immers de infectie toch maar een tijdelijke is, terwijl aan de ene kant nog geen specifieke therapie bekend is en aan de andere kant nog geen dodelijke gevallen zijn beschreven.

Sinds de *mijnworm* uit de Limburgse mijnen is verdreven is deze alleen nog van belang voor onze tropenartsen. In Nederland hadden we uitsluitend te maken met *Ancylostoma duodenale*, terwijl we in Indië hoofdzakelijk de iets kleinere *Necator americanus* aantreffen. De eieren dezer twee soorten laten zich nauwelijks onderscheiden, maar in de praktijk is dit ook niet nodig, omdat symptomen en

therapie dezer beide infecties dezelfde zijn. De diagnose „mijnworm“ plus een schatting of er weinig, matig veel of veel wormen in de darm aanwezig zijn is voldoende.

Strongyloides stercoralis is in Nederland zeer zeldzaam, maar komt in Indië veelvuldig voor. De eieren van deze worm komen reeds in de darm uit, zodat we in de ontlasting alleen de larven aantreffen. De pathogeniteit is zeer gering.

Ascaris lumbricoides en *Enterobius vermicularis* zijn ware cosmopolieten. Een Ascariswifje legt zoveel eieren, dat die bij een direct onderzoek altijd wel in de faeces zijn te vinden en hiervoor is een of andere concentratiemethode dus van weinig belang. Enterobius legt zijn eieren normaliter peri-anaal, in de ontlasting treft men de eieren slechts zelden aan, in aanmerking genomen de waarschijnlijk zeer hoge infectie-index van het mensdom (Cram en Reardon, 1937; Sawitz, Odom en Lincicome, 1939; Smalt, 1944). Een Enterobius besmetting moet men dus opsporen via het onderzoek van anusschraapsel met de knots van Swellengrebel en Schüffner (1943) of met de N.I.H. Swab van Hall (1937).

De Cestoden vallen buiten dit onderzoek, omdat de eieren der meeste lintwormen, zoals *Taenia saginata*, *Taenia solium* en *Diphyllobothrium latum* met de in het onderhavige onderzoek gebruikte concentratiemethoden niet concentreren of beter gezegd helemaal niet worden aangetoond. Voor *Hymenolepis nana* geldt dit niet, maar deze is zowel in Nederland als in Indië vrij zeldzaam. Bij mijn materiaal trof ik hem geen enkele maal aan, zodat ik daar geen resultaten over kan vermelden. Wat *Taenia saginata* en *T. solium* betreft wordt in de recente literatuur aangeraden om evenals bij *Enterobius vermicularis* anusschraapsel te onderzoeken omdat daarin vaker eieren zouden worden gevonden, dan in de ontlasting (Polyapolskaya, 1943; Mazzotti, 1944). Overigens zal meestal het vinden van proglottiden de patiënt zelf reeds de weg wijzen.

Trematoden eieren vallen ook buiten dit onderzoek omdat hiervoor hetzelfde geldt als voor de Cestoden eieren, nl., dat ze niet drijven in geconcentreerde zoutoplossingen (Hegner en Cort, 1921).

Uit bovenstaande blijkt wel, dat dit onderzoek voornamelijk voor de tropenartsen van belang is.

Welke zijn nu de methoden van onderzoek?

Het *protozoën* onderzoek kan geschieden in een rechtstreeks *faeces* preparaat, d.w.z. een suspensie van faeces in een druppeltje water of fysiologische zoutoplossing onder een dekglas wordt door het microscoop bekeken. Ter vergemakkelijking van het onderzoek kunnen we een contrastkleuring toepassen door in plaats van een druppel water een druppel 2 % *eosine*oplossing te gebruiken, wat dus geen extra moeite kost. De *protozoën* blijven hierbij ongekleurd terwijl de achtergrond rose is. In dunne preparaten vallen zo de *protozoën* reeds bij kleine vergroting ($100\times$) als ongekleurde partikels tegen de rose achtergrond op.

Dit water- of eosine-preparaat is in vele gevallen echter niet voldoende om de aard der *protozoën* vast te stellen, daarnaast moet dan nog een *jodium* preparaat gemaakt worden. Dit vervaardigt men door in plaats van eosine een druppel 1 of 2 % jodiumoplossing te nemen.

Met dit rechtstreekse onderzoek komt men, als er voldoende parasieten met de ontlasting uitgescheiden worden, bijna altijd uit. Een bezwaar van deze eenvoudige werkwijze is, dat men bij een negatief resultaat niet aanstonds tot de afwezigheid van parasieten mag besluiten. De ervaring leert, dat daarvoor herhaalde negatieve resultaten van op verschillende dagen onderzochte ontlasting nodig zijn. Hoe vaak onderzocht moet worden is één van de vele strijdvrageen op dit gebied. Meestal wordt 3 tot 6 maal aangegeven, sommigen eisen echter een nog veelvuldiger onderzoek (Sawitz en Faust, 1942). Hierbij speelt natuurlijk de technische vaardigheid van de onderzoeker een zeer grote rol¹⁾.

Het maken van *gefixeerde* en *gekleurde* preparaten komt aan dit bezwaar niet of nauwelijks tegemoet. Mag het aantal positieve vondsten bij nauwkeurig onderzoek iets groter uitvallen, dit kleine voordeel weegt niet op tegen de veel grotere moeite, die men zich moet getroosten en de extra tijd die men er aan moet besteden.

Er bestaan nu ook verschillende *concentratie methoden*. Men moet echter wel bedenken, dat hiervoor alleen de cysten in aanmerking komen, de vegetatieve vormen verdragen een dergelijke behandeling niet. Dit houdt dus a priori in, dat in vele gevallen van een concentratiemethode geen heil is te verwachten. Elke concentratiemethode

¹⁾ Zie ook Haughwouth (1923).

vereist natuurlijk enige manipulaties en tijd en de vraag is dus: wegen de voordelen tegen de nadelen op? Deze vraag wordt door de verschillende deskundigen verschillend beantwoord. De een zweert bij een bepaalde methode, de ander vindt hem maar omslachtig en onpraktisch. Ook hier hangt natuurlijk veel van de bedrevenheid der onderzoeker af: hoe sneller hij een rechtstreeks preparaat kan door-kijken hoe minder behoefte hij aan een tijdrovende concentratiemethode zal hebben, liever kijkt hij een volgende keer nog eens een rechtstreeks preparaat door.

Terwijl de concentratiemethoden alleen op het vinden van cysten zijn gericht is het *laxeren* bedoeld om de vegetatieve vormen in de ontlasting te brengen. Verschillende onderzoekers hebben goede resultaten bereikt, door de te onderzoeken personen een zodanig laxans te geven, dat de darm snel wordt geledigd en de ontlasting dun is. Zij vonden dan bij één rechtstreeks onderzoek veel meer infecties dan bij het onderzoek in de normale gevormde faeces. Aangezien het hier om de vegetatieve vormen gaat die buiten het lichaam vrij spoedig sterven, moet het onderzoek direct na de defaecatie plaats hebben. Bij het concentreren heeft men alleen met de cysten te doen en dat hoeft niet à la minute te gebeuren, daar deze vormen in de ijskast dagen lang blijven leven.

Evenals bij de bacteriën kunnen we proberen de protozoën te *kweken*¹⁾. Ook hiervoor is kersverse ontlasting, liefst na een behoorlijk laxans, nodig. Dit kweken is echter nog geen onverdeeld succes en er kleven nog al wat bezwaren aan. Ook over het nut van de cultuur bestaan natuurlijk verschillende opvattingen.

Ten slotte hebben we het van een geheel ander punt uitgaande *serologische onderzoek*. Hierbij is alleen de *Entamoeba histolytica* in het spel. Aannemende dat *Ent. histolytica* een obligate weefsel-parasiet is en het lichaam daarop reageert, is het te verwachten dat er bij een infectie van *Ent. histolytica* specifieke serum reacties mogelijk zijn. We hebben een complementbindingsreactie²⁾, een preci-

¹⁾ Boeck en Drbohlav (1925); Brug (1936 a en b); Craig (1926); Dobell en Laidlaw (1926); Spector (1932); St. John (1926); Yorke en Adams (1926); Magath en Ward (1928); Cleveland en Collier (1930); Magath (1934); Svensson en Linders (1934); Faust (1930); Aschley (1935); Nelson (1940).

²⁾ Craig (1927, 1929, 1933); Craig en Kagy (1933); Paulson en

pitine reactie en een huidproef ¹⁾, welke laatste op allergie berust. Vooral de complementbindingsreactie is naarstig uitgewerkt. De proef is echter nog niet geheel betrouwbaar; behalve dat hij soms faalt een positieve uitslag te geven, geeft hij ook wel foutiefelijk een positieve aanwijzing (M a g a t h en M e l e n e y, 1940). Daarenboven is deze methode zeer ingewikkeld.

Samenvattend komen we dus tot zes mogelijkheden en combinaties daarvan.

1. Het rechtstreekse onderzoek in eosine- en jodium-oplossing.
2. Het maken van gefixeerde en gekleurde preparaten.
3. Het onderzoek met behulp van een concentratiemethode.
4. Het onderzoek na toediening van een laxeermiddel.
5. De cultuur.
6. Het serologische onderzoek.

Voor de wormeieren hebben we iets dergelijks.

We kennen de *rechtstreekse methode*, dus het onderzoek van een suspensie van een weinig faeces in een druppel water. Omdat deze eieren veel groter zijn dan cysten kunnen we een dikkere laag maken dan voor het protozoënonderzoek en met een kleinere vergroting ($50\times$) volstaan.

Ten tweede kunnen we een *faeces uitstrijkje* maken op een object-glas, dit laten opdrogen, dan een druppel cederolie, glycerine of paraffinum liquidum er over heen uitstrijken ter opheldering en zo bekijken. In zo'n uitstrijkje kunnen we veel meer faeces benutten dan in een druppel water, we hebben een veel dikkere laag die met behulp van de cederolie doorzichtig wordt gemaakt. Deze methode is echter alleen geschikt voor eieren met een stevige schaal, zoals van *Ascaris*, *Trichocephalus* en *Oxyuris*, maar mijnwormeieren worden meestal onherkenbaar.

Ten derde hebben we verschillende *concentratiemethoden*.

En ten vierde kunnen we de eieren van de mijnworm uit laten komen om de bewegelijke *larven* te *concentreren*. Deze concentratiemethode voor mijnwormlarven (methode van B a e r m a n n, 1917)

Andrews (1938); Sherwood en Heathman (1932); Weiss en Arnold (1934).

¹⁾ Zie Spector (1932).

door Brug geschikt gemaakt voor faecesonderzoek (1921 a) is ook nuttig voor het opsporen van een Strongyloidesinfectie.

De opzet van het onderhavige onderzoek was nu, uit te maken of het concentreren van protozoëncysten voor de medicus practicus geschikt is en zo ja, welke methode de voorkeur verdient. Tevens werd nagegaan welk nut laxeren heeft. Over het kweken der protozoën als routinemethode deed Prof. S. L. Brug in dit laboratorium een uitvoerig onderzoek (1936). De resultaten waren niet bevredigend en aangezien de techniek sindsdien niet veel is veranderd, werd het maken van cultures achterwege gelaten. Het serologische onderzoek komt voorlopig voor de praktijk nog niet in aanmerking.

De methode van Faust bedoelt zowel protozoëncysten als verschillende wormeieren te concentreren. Daarom werd deze methode ook vergeleken met enige andere opsporingswijzen dezer eieren.

HOOFDSTUK II

GESCHIEDKUNDIG OVERZICHT DER VERSCHILLENDE ONDERZOEKINGSMETHODEN

De eerste die ontlasting onder een microscoop bekeek, was onze landgenoot *Leeuwenhoek*. In 1681 schreef hij een brief aan de Royal Society, waarin hij vermeldde, af en toe last van diarrhee te hebben en dat hij in zijn dunne ontlasting hele kleine diertjes gevonden had, ongeveer ter grootte van een bloedlichaampje. *Dobell* (1920) maakte een speciale studie van *Leeuwenhoek's* brieven en is van mening dat *Leeuwenhoek* twee soorten van flagellaten zag, waarvan de ene *Lambli*a intestinalis was en de andere niet te identificeren valt. Anderen (*Davaine* 1860, *Stein* 1867) geloven dat *Leeuwenhoek* geen *Lambli*a's maar *Balantidium coli* zag. In ieder geval was *Leeuwenhoek* de eerste, die protozoën uit de menselijke darm ontdekte, nadat hij een paar jaar eerder in 1676 reeds vrij levende protozoën had gezien. Hij bekeek zijn ontlasting, die toen erg dun en waterig was, zonder enige toevoeging onder het microscoop. Toen hij daarna ook zijn goed gevormde faeces onderzocht voegde hij wat schoon water toe.

Daar zijn tijdgenoten niet zulke goede lenzen konden maken en *Leeuwenhoek* zijn geheim van het lenzenslijpen mee in het graf nam konden zijn vondsten niet door anderen worden bevestigd en raakten in vergetelheid.

Het duurde tot 1854 voordat opnieuw protozoën in de menselijke faeces werden gezien. Het was *Davaine* die toen *Trichomonas intestinalis* en *Chilomastix mesnili* ontdekte. Kort daarop herontdekte *Lamb*l (1859) *Lambli*a intestinalis. (*Lamb*l zelf dacht niet met een flagellaat maar met een amoebe te doen te hebben). Intussen had *Malmsten* (1857) *Balantidium coli* ontdekt (of herontdekt,

dat hangt af van wat men *Leeuwenhoek* toeschrijft gezien te hebben). Het waren dus de flagellaten en de ciliaten, die door hun grote bewegelijkheid het eerst opvielen.

Pas een kwart eeuw later werden amoeben bij de mens gevonden. *Lewis* (1870) en *Cunningham* (1871) zagen waarschijnlijk in hoofdzaak *Entamoeba coli*, *Lösch* (1875) *Entamoeba histolytica*.

De methode van onderzoek was dezelfde als *Leeuwenhoek* gebruikte. Men maakte een suspensie van een weinig faeces in een druppel water of physiologische zoutoplossing. De ontlasting moest zo vers mogelijk worden nagekeken. Verwarmde objecttafels werden aanbevolen om de protozoën levendig te houden terwijl ook toevoeging van speeksel daartoe nuttig zou zijn. *Lutz* schreef in 1891: „Slechts de vers onderzochte ontlasting geeft een juist begrip van het dikwijls geweldig grote aantal en de verbazingwekkende levendigheid der amoeben; men moet daarom het microscoop meenemen naar de zieke en onmiddellijk na de defaecatie de ontlasting op een matig verwarmde objecttafel bekijken. Als vloeistof om toe te voegen laat zich speeksel op lichaamstemperatuur goed gebruiken.”

Ondanks alle voorzorgen waren er echter nog vele bezwaren aan het protozoën-onderzoek verbonden. Zolang men de eencelligen uit de faeces niet behoorlijk kon kleuren was bestudering der fijnere structuur en een behoorlijke differentiëring in soorten onmogelijk en tastte men in vele opzichten nog in het duister. In water, *Ringers'* vloeistof, speeksel of iets dergelijks zien we wel mooi de bewegingen der vegetatieve vormen, terwijl de kernen vaak zichtbaar zijn, maar de kernen van de cysten zijn slecht of helemaal niet zichtbaar, zodat niet eens het aantal kernen — zo belangrijk voor de differentiële diagnose — vastgesteld kan worden.

De vegetatieve vormen van *Ent. coli* en *Ent. histolytica* zijn, behalve bij acute amoebendysenterie, nauwelijks van elkaar te onderscheiden. Naast de amoebendysenterie komt de bacillaire dysenterie in grotere frequentie voor. Dit alles maakte het de eerste onderzoekers niet gemakkelijk de juiste weg te vinden.

Na de vondst van *Lösch* van amoeben bij een lijder aan dysenterie (*Lösch* zelf was in het geheel niet overtuigd dat deze parasiet en de darmaandoening met elkaar in causaal verband stonden, hoewel hij de infectie op een hond had weten over te brengen) waren

deze ééncelligen in het middelpunt der belangstelling komen te staan. Velen gingen ijverig op zoek en men vond amoeben zowel in faeces van zieken als van gezonden, maar ook in coupes van darmzweren en leverabscessen. *Kartulis* (1891) was waarschijnlijk de eerste, die de hypothese opperde, dat er twee soorten van amoeben zouden zijn: één pathogene en één niet pathogene. *Councilman* en *Laflaur* (1891) kwamen met de stelling dat dysenterie een syndroom is waarvan een amoebe de oorzaak kan zijn zodat we o.a. van een amoebendysenterie kunnen spreken. *Quincke* en *Roos* (1893) ontdekten de cysten der *Ent. histolytica* en slaagden er in daarmee jonge katjes te infecteren, waarmee ze het bewijs leverden, dat *Ent. histolytica* pathogeen kan zijn. In weefselcoupes kon men de parasiet wel goed kleuren, maar daar vindt men alleen de grote vegetatieve vorm van *Ent. histolytica*, niet de kleine vorm, geen andere amoeben en geen cysten. *Kruse* en *Pasquale* (1894) merkten op dat de kernen beter zichtbaar worden na toevoeging van azijnzuur of sublimaat en vlak voor het afsterven. Daarnaast pasten zij de vitale kleuring met gentiaanviolet toe, waarbij van de levende amoeben alleen hun insluitsels worden gekleurd. Zo heel erg veel schoot men hier niet mee op. Overigens is het geschrift van *Kruse* en *Pasquale* zeer belangwekkend. Deze auteurs hadden reeds een goed inzicht in de verhouding amoebendysenterie—bacillaire dysenterie en in de verhouding pathogene—niet pathogene amoeben. Tevens constateerden zij, dat de kleine vorm van *Ent. histolytica* (de vorm die *Kuennen* en *Swellengrebel* in 1913 het *minutastadium* noemden en die *Elmassian* in 1909 als een aparte soort beschreef) sprekend geleek op *Ent. coli*.

Merkwaardig is het dat in de volgende jaren steeds meer ontdekkingen werden gedaan die echter door onjuiste waarnemingen of interpretaties de zaak eerder vertroebelden dan verhelderden. Wel leerde men langzamerhand de haematoxyline kleuring ook op faecespreparaten toepassen, hiermede was ook een bron voor fouten geschapen. Een voorbeeld hiervan is het onderzoek van *Schuddin* (1903). Aan de ene kant danken we hieraan de definitieve scheiding tussen de pathogene *Ent. histolytica* en de niet pathogene *Ent. coli* benevens een uitstekende beschrijving van het histolytische stadium van de eerste soort, doch de beschouwing over de levenscyclus der beide amoeben is er volkomen naast. Zijn werk bracht meer ver-

warring dan opheldering. Pas het jaar 1913 brengt ons weer belangrijke publicaties. Walker en Sellards bewijzen door proeven op de mens dat *Ent. histolytica* afkomstig zowel van zieken als van gezonden pathogeen is en *Ent. coli* niet pathogeen. Kuenen en Swellengrebel brengen ons een beter begrip bij omtrent de levenscyclus van *Ent. histolytica*, waarvan we nu het histolytische, het minuta en het cyste stadium onderscheiden. Maar bovendien brengen zij een welkome vereenvoudiging van het faecesonderzoek. In plaats van een druppel physiologische zoutoplossing suspenderen zij de faeces in een druppel 1 % waterige eosine oplossing. Hiermede verkrijgt men een rose achtergrond waartegen slechts enkele objecten waaronder de levende protozoën en hun cysten als ongekleurde deeltjes duidelijk afsteken. Zo is het mogelijk een preparaat met een betrekkelijk kleine vergroting (100 $\times$) vrij snel af te zoeken. De details der protozoën werden hierbij niet duidelijker doch het zoeken er naar zeer vergemakkelijkt. Daarnaast gebruikten zij het met jodium behandelde preparaat. Dit laatste was waarschijnlijk door Mc Carison in 1909 voor het eerst gedaan. Met een 1 % jodiumoplossing worden n.l. de kernen der Entamoeben cysten en de glycoëen vacuolen goed zichtbaar. Hiermede is het dus bijna altijd mogelijk de cysten van *Ent. histolytica* van die der andere soorten te onderscheiden.

Met de combinatie van het eosine en het jodiumpreparaat komt men bijna altijd uit. In de eosine waarin de protozoën blijven leven bekijkt men de vegetatieve vormen en men kijkt of er cysten aanwezig zijn. Voor de differentiële diagnose van deze laatsten dient dan het jodiumpreparaat. Slechts in twijfelgevallen of voor nauwkeurige cytologische studies zijn nu de haemotoxyline kleuringen nodig. Nog steeds zijn er onderzoekers die het maken van een haemotoxyline preparaat als routine methode noodzakelijk vinden maar deze behoren tot een kleine minderheid (Kellogg en Scott, 1937; James, 1926), anderen vinden het maken van een enkel jodiumpreparaat al voldoende, menende hiermede tijd te winnen (Manson-Bahr, 1944). Dit laatste is zeker onjuist. Een eosinepreparaat met zijn contrastwerking kijkt men veel sneller door en met groter zekerheid dan een jodium preparaat, waarin de cysten gemakkelijk over het hoofd worden gezien en zo men in eosine niets vindt kan het jodiumpreparaat achterwege blijven.

Bovendien zijn de vegetatieve vormen in eosine veel beter te herkennen dan in jodium ¹⁾.

Donaldson (1917) ondervindt het bezwaar van het geringe contrast in jodium door er eosine, zure fuchsine of rode inkt aan toe te voegen. De achtergrond kleurt dan donkerrood terwijl de cysten geelbruin worden. Dit lukt echter niet altijd, vaak (en op den duur altijd) kleuren de cysten ook rood en is het voordeel van het contrast weer verdwenen. Daarbij ook hier het nadeel dat men geen levende en bewegende vormen ziet, daar het jodium alles onmiddellijk doodt ²⁾.

Hierbij zij er op gewezen, dat eosine geen vitale kleuring geeft. Wel blijven de protozoën leven, doch ze worden niet gekleurd, integendeel juist alles wat dood is kleurt zich rood. De werkelijke vitale kleuringen zoals met methyleenblauw, neutraalrood, gentiaanviolet, enz. hebben steeds maar een tijdelijke en plaatselijke populariteit genoten. Doordat zij de protozoën geheel of gedeeltelijk kleuren is het contrast veel minder dan in eosine en daar geen hunner de kernen kleurt bieden zij geen voordelen ³⁾.

Omdat het maken van duurzame gekleurde preparaten zo omslachtig is en een grote technische vaardigheid vereist is op dit terrein steeds naarstig naar eenvoudiger methoden uitgezien ⁴⁾. Het gevolg

¹⁾ Koolemans Beynen (1917), Brug (1936), Magath (1934).

²⁾ Zo ging Faust (1930) weer over tot het gewone jodium preparaat, omdat hij van de methode Donaldson geen voordeel meende te hebben.

³⁾ Kruse en Pasquale (1894), Prowazek (1904), Craig (1908), Darling (1913), Kuenen (1914), Flu (1916), Cutler en Williamson (1917), Thomas en Baumgartner (1925), Brown (1930).

⁴⁾ Als voorbeeld van omslachtigheid wil ik de karmijnkleuring volgens Curran (1928) noemen, die hij aanbeveelt om de goede contrasten. Deze kleuring is als volgt:

- | | | | | |
|-----|---|---|---|------------|
| 1. | fixatie in vloeistof van Schaudinn op 40° | . | . | 3 min. |
| 2. | 70 % alcohol | . | . | 2 min. |
| 3. | 70 % joodalcohol | . | . | 2 min. |
| 4. | 70 % alcohol | . | . | 2 min. |
| 5. | 50 % alcohol | . | . | 2 min. |
| 6. | stromend water | . | . | 2 min. |
| 7. | Harris haematoxyline | . | . | 20 min. |
| 8. | stromend water | . | . | 2 min. |
| 9. | 50 % alcohol | . | . | 2 min. |
| 10. | zoutzure alcohol | . | . | 15—20 sec. |
| 11. | 50 % alcohol | . | . | 2 min. |

is dat er talloze variaties bestaan, bijna alle berustend op hetzelfde principe. Het preparaat mag gedurende de gehele behandeling geen ogenblik uitdrogen. Men begint dus met een vochtige fixatie, daarna wordt het preparaat na een eventueel voorafgaande beitsing gekleurd met haematoxyline, waarna het preparaat zo nodig gedifferentieerd moet worden om ten slotte na ontwatering in canadabalsem of i.d. te worden ingesloten. De meest bekende methode is de ijzer-haematoxyline methode volgens *Heidenhain* en deze voor darmprotozoën waarschijnlijk oudste goede kleurmethode geeft tot nu toe onovertroffen beelden. Een bezwaar is echter dat gedifferentieerd moet worden, wat ten eerste een grote ervaring vereist en ten tweede enigszins op goed geluk moet geschieden wanneer er slechts zeer weinig protozoën in het preparaat aanwezig zijn. Dit bezwaar geldt voor alle methoden waarbij nauwkeurig gedifferentieerd moet worden zoals de ijzerhaematoxylinekleuring volgens *Faust*¹⁾ of de verkorte *Heidenhain* methode volgens *Brug* (waarbij maar 10 minuten gebeitst en 10 minuten gekleurd wordt) of de kleuring van *Mann* gewijzigd door *Dobell* (dit is geen haematoxylinekleuring). Daarom worden voor routine onderzoek meestal kleuringen gebruikt waarbij niet gedifferentieerd behoeft te worden of beter gezegd waarbij de differentiatie niet microscopisch gecontroleerd moet worden zoals de methode van *Delafield*, de ijzerhaematoxyline kleuring volgens *Brug*, de *Heidenhain* tijdskleuring volgens *Nöller*, *Mayer's* haemaluin kleuring, de phosphorwolfram- of phosphormolybdeen-haematoxylinekleuring vol-

12. stromend water	5 min.
13. ammonia (2 dr. in 100 cc H ₂ O)	1 min.
14. stromend water	2 min.
15. Bests karmijn	25 min.
16. differentiërvloeistof	2 min.
17. 50 % alcohol	2 min.
18. stromend water	1½ min.
19. 50, 70, 80, 90, 100 % alcohol, elk	2 min.
20. xylol	3 min.
21. insluiten in damar	

(16 = absolute alcohol 80; methyl alcohol 40; gedest. H₂O 100)

¹⁾ Voor een overzicht van verschillende kleurmethoden zie *Craig* (1942); zie verder *Rodenhuis* (1921), *Brug* (1919 en 1935), *Mathis* (1914), *Riegel* (1918), *Nöller* (1921), *Dobell* (1942).

gens Dobell of de methode Walker. De laatste is ook een snelle kleuring. Methoden als van Riegel (geen haematoxyline-kleuring) of van Mathis geven geen blijvende kleuring, waardoor een van de belangrijkste voordelen der gekleurde preparaten wegvalt. Droge uitstrijkjes kleuren, zoals bv. Wiener aangeeft, geven geen bruikbare resultaten daar zowel de vegetatieve vormen als de cysten door uitdroging meestal onherkenbaar vervormd worden. Wel kan men gedroogde preparaten maken van vegetatieve *Lambli*a's en om de zweepdraden van flagellaten te kunnen tellen. Men kan dan kleuren met Giemsa of met Kiewiet de Jonge¹⁾ of men kan een Burripreparaat maken met oostindische inkt.

Meer uitzicht op praktisch voordeel bood het zoeken naar een geschikte concentratiemethode.

Het eenvoudigste is wel het maken van een faecessuspensie in water, deze zeven door hydrophielgaas, centrifugeren, het sediment weer suspenderen in vers water, weer centrifugeren, enz. tot het bovenstaande water helder is en dan het sediment bekijken. Ondanks de slechts matige concentratie die men op deze wijze verkrijgt heeft deze methode een lange levensduur gehad, eenvoudig door het gebrek aan een andere goede en toch eenvoudige methode (zie Craig, 1942).

In 1914 beschreef Ujihara een concentratiemethode, die zo ingewikkeld was dat hij geen ingang heeft gevonden. Hij maakte een suspensie van faeces in water, filtreerde dat, voegde een bepaalde hoeveelheid glycerine toe, centrifugeerde, nam de bovenste vloeistoflaag er af, voegde water toe en centrifugeerde, waste het sediment een paar maal uit met physiologische zoutoplossing, behandelde met formaline, waste uit met water, behandelde met verdund zoutzuur, schudde met aether, centrifugeerde en bekeek tenslotte het sediment. Zo'n methode al zou hij goed concentreren heeft geen nut, dan is een herhaald rechtstreeks onderzoek wel zo eenvoudig.

Meer waardering vond de methode van Cropper en Row (1917). Faeces wordt een half uur met physiologische zoutoplossing geschud en na toevoeging van aether nog eens even geschud. Na een paar minuten staan wordt de onderstaande vloeistof gecentrifugeerd waarna het sediment wordt bekeken. De faecespartikels worden

¹⁾ Kleurstof van Kiewiet de Jonge: azuur II 0,040; eosine 0,025; methylalcohol 25,—. Voor het gebruik 1 K. d. J. op 2 H₂O.

door de aether geïmpregneerd en stijgen daardoor op terwijl de protozoëncysten zinken.

Hetzelfde principe werd toegepast door Carles en Barthelémy (1917). Zij maakten een suspensie van faeces in een mengsel van physiologische zoutoplossing en formol, centrifugeerden dat, voegden aan het sediment een mengsel van azijnzuur, formol en water toe en deden daar nog wat aether bij, schudden goed, de onderstaande vloeistof werd na enige tijd staan gecentrifugeerd, waarna het sediment werd bekeken.

Ook de methode van Bayer (1918) (zie Rodenhuis, 1921) maakt gebruik van de aetherimpregnatie. Hierbij wordt de faeces gesuspenderd in de vloeistof van Bayer (een mengsel van koperzouten, formaline, kamferwater en ijsazijn), dan flink geschud met een gelijke hoeveelheid aether, waarna na enige tijd staan de onderstaande vloeistof wordt gecentrifugeerd waarvan het sediment wordt bekeken.

Damaso de Rivas (1928) gaf weer een andere modificatie. Hij maakte de suspensie met azijnzuur en schudde dan met aether.

Over de waarde van al deze methoden wordt zeer verschillend geoordeeld, maar het hoofdbezwaar voor de praktijk is de omslachtigheid en tijdrovendheid.

In 1938 brachten Faust en medewerkers een methode die van een geheel andere gedachte uitging. Voor het concentreren van wormeieren was de flottatiemethode met een verzadigde NaCl oplossing volgens Fülleborn in zwang. In deze sterke zoutoplossing drijven verschillende soorten wormeieren en ook protozoëncysten. Wat de laatste betreft is de methode echter alleen geschikt voor de oöcysten der coccidien, de andere protozoëncysten worden door plasmolyse te veel misvormd. Faust vond nu een vloeistof zwaar genoeg om de cysten te doen drijven en waarin de cysten, althans voor een korte tijd, goed herkenbaar blijven. Hij maakte een faecessuspensie in water, centrifugeert deze, suspendeert het sediment weer in vers water, centrifugeert, enz. drie à vijf maal, suspendeert dan het sediment in een sterke Zn SO_4 oplossing, centrifugeert en neemt ten slotte het bovenste laagje af om dat te bekijken. Bovendien hebben we hier nog het voordeel dat ook eieren van verschillende wormsoorten meedoen.

Naast de concentratiemethoden is het vooral het aanleggen van een

cultuur die de geesten heeft bezig gehouden. Reeds in de vorige eeuw probeerde men de protozoën te kweken, maar waar men soms dacht succes te hebben bleek men altijd met verontreinigingen met vrij levende vormen te maken te hebben. Wie het eerst *Ent. histolytica* in cultuur heeft kunnen brengen is een strijdvraag. Veelal wordt aangenomen dat Cutler in 1918 de eerste was. Dobell bestrijdt dit op grond van het feit dat het hem nooit kon gelukken cultures op de voedingsbodems volgens Cutler's recepten te doen opkomen. Hij beschouwt Boeck en Drbohlav (1925) als de eersten. Hoe het ook zij, deze laatsten zijn inderdaad de grondleggers voor onze cultuurmethoden geweest. Voor het verkrijgen van een blijvende cultuur gaan we nog steeds volgens hun principes te werk. De voedingsbodems bestaan uit een schuine vaste laag van gestold ei, gestold paardenserum of leverinfuus in agar met daarboven een vloeistof bestaande uit serum of eiwit verdund met de oplossing van Ringer of van Locke. Bovendien wordt meestal nog wat rijstzetmeel toegevoegd. De cultuur moet steeds om de paar dagen overgeënt worden. St. John (1926) was de eerste die de diagnostische waarde naar voren bracht. Hij vond met behulp van cultures meer histolytica-infecties dan met het directe onderzoek alleen. Dit is daarna door vele onderzoekers bevestigd. Hoewel Craig aangeeft dat men voor diagnostische doeleinden het vaste deel van de voedingsbodem kan weglaten, maakt de vervaardiging hiervan en de benodigde broedstoof de zaak weer vrij ingewikkeld. Bovendien moet geënt worden direct na de defaecatie en liefst na toediening van een laxans. Daarbij komt dat de voordelen groter lijken dan ze in werkelijkheid zijn. Van de vier pathogene darmprotozoën slaan de *Lambliæ*'s en de Coccidiën niet aan. *Balantidium coli* bij de mens is zeldzaam, dus in de praktijk gaat het alleen om *Ent. histolytica* en wel in die chronische of latente gevallen van amoebendysenterie waarbij men geen cysten vindt, want bij acute amoebendysenterie vindt men de amoeben bij het directe onderzoek al. In de cultuur komen de amoeben echter alleen als minutavormen voor, slechts een enkele keer ook als cysten en men staat dan dus voor de puzzle of het *Ent. histolytica* of wel *Ent. coli* is. Over het algemeen zal de eerste bewegelijker zijn, maar dit verschil is niet absoluut; verder is de kernbouw dezer twee soorten iets anders maar het verschil is zeer subtiel.

Bijgevolg is het zeer vaak ondoenlijk uit te maken waarmede we te doen hebben (Brug, 1917; Dobell, 1938). Het enige voordeel dat we dan hebben bereikt is de wetenschap dat er darmprotozoën aanwezig waren en we de ontlasting zo vaak moeten onderzoeken tot we cysten vinden.

Precies hetzelfde nadeel ondervinden we bij het laxeren van de patiënt. Ook deze methode is al oud en dateert reeds uit de vorige eeuw (Schuberg, 1893). Ongetwijfeld komt men zo veel vaker een protozoën infectie op het spoor dan bij het eenmalige rechtstreekse onderzoek van de spontane, meestal meer of minder gevormde ontlasting. In de ontlasting doet men verstandig alleen dan op een amoebe het etiket *Ent. histolytica* te hechten wanneer hij rode bloedlichaampjes heeft opgenomen ¹⁾. Het laxans doet de dikke darm snel ontledigen zodat de eventueel aanwezige amoeben een goede kans hebben nog levend ontlast te worden. In de chronische of latente amoebendysenterie zal de *histolytica* vegetatie hoofdzakelijk uit minutavormen bestaan en is de kans op het ontlasten van de typische histolytische vormen gering. Over het algemeen zullen we dus minutavormen te zien krijgen en deze zijn in de ontlasting niet van *Ent. coli* te onderscheiden. Daarbij moet de ontlasting spoedig na de defaecatie worden nagekeken omdat anders de amoeben reeds dood en verdwenen zijn. Ambulante patiënten moeten dus na het innemen van het purgeermiddel naar het laboratorium komen om daar hun ontlasting te deponeren, terwijl er dan iemand beschikbaar moet zijn om de ontlasting onmiddellijk na te kijken. Dus vele bezwaren en maar betrekkelijk weinig voordelen.

De complementbindingsreactie door Izar in 1914 het eerste gedaan is later vooral door Craig verbeterd, maar Craig zelf geeft toe dat de reactie nog niet geheel betrouwbaar is en alleen een fingerwijzing kan geven. Aangezien deze reactie verder ook zeer ingewikkeld en omslachtig is en de medewerking van geroutineerde serologen vereist, is hij tot op heden voor de praktijk volkomen ongeschikt. Craig zelf raadt hem voornamelijk aan als hulpmiddel bij het diagnosticeren van een amoebenabsces. Hierbij zoekt men vaak tevergeefs naar protozoën in de ontlasting en zou de complementbindingsreactie voor 100% positief zijn (Craig, 1942).

¹⁾ Wenyon en O'Connor (1917), Schiff (1919), Bonne (1935), Brug (1935).

De volgende reagentia zijn nodig: vers cavia serum als complement, serum van konijnen geïmmuniseerd tegen menselijke rode bloedlichaampjes als haemolytische amboceptor, een suspensie van menselijke rode bloedlichaampjes als haemolytisch antigeen, een alcoholisch extract van de amoeben of cysten van *Ent. histolytica* als amoeben antigeen, het bloed van de patiënt als amoeben amboceptor en physiologische zoutoplossing.

De precipitine reactie van Wagener en de huidreactie van Scalas boden blijkbaar geen perspectieven genoeg voor verder onderzoek (zie Spector, 1932).

In het bestek van dit hoofdstuk moet nog worden vermeld de ontdekking van *Entamoeba tenuis* (Kuenen en Swellingrebel, 1917; Brug, 1917). Deze amoebe wordt door de meeste Angelsakers niet als een afzonderlijke soort beschouwd, maar als een klein ras van *Ent. histolytica*. Er zijn echter zeer duidelijke verschillen. Zo vinden we bij *Ent. tenuis* nooit histolytische vormen, terwijl de cysten veel meer en anders gevormde chromidiën bevatten dan die van *Ent. histolytica*. Dat *Ent. tenuis* voor de mens pathogeen is is nog niet bewezen, maar in ieder geval veroorzaakt hij nooit een acute dysenterie. Ook voor katten en honden is *Ent. tenuis* veel minder pathogeen dan *Ent. histolytica*.

Ten slotte werden nog aan de lijst van darmprotozoën toegevoegd *Endolimax nana* (Wenyon en O'Connor, 1917), *Endolimax williamsi* (Prowazek, 1911), *Dientamoeba fragilis* (Jepps en Dobell, 1918), *Embadomonas intestinalis* (Wenyon en O'Connor, 1917) en *Enteromonas hominis* (da Fonseca, 1915)¹⁾, terwijl *Tricercomonas intestinalis*²⁾ (Wenyon en O'Connor, 1917) over het algemeen als synoniem met de laatst genoemde wordt beschouwd.

Geen van deze laatste reeks opgesomde parasieten is voor zover we weten pathogeen en ze zijn voor de praktijk van weinig belang.

Nog enige andere laboratorium gegevens kunnen een aanwijzing, soms zelfs een duidelijke aanwijzing voor de diagnose amoebiasis zijn, waarbij dan onder amoebiasis wordt verstaan een infectie met *Ent. histolytica*.

Zo kan er bij amoebendysenterie een lichte eosinophilie (Mathis,

¹⁾ Zie ook Wenyon (1916) en Brug (1919).

²⁾ Zie Wenyon (1926).

Leger en Jouveau-Dubreuil, 1911) en een lichte monocytose (Chalmers en Archibald, 1915) in het bloed bestaan. Acton (1918) wees op het belang van het vinden van de kristallen van Charcot-Leyden in de ontlasting en Willmore en Shearman (1918) beschreven het karakteristieke exsudaat in de faeces bij bacillaire dysenterie in tegenstelling tot het weinig karakteristieke bij amoebendysenterie. Haughwout (1924) gaat zelfs zo ver de stelling te poneren, dat een enigszins geroutineerd onderzoeker op het rechtstreekse faecespreparaat met grote waarschijnlijkheid de differentiële diagnose tussen bacillaire en amoebendysenterie kan stellen. Vindt men geen amoeben maar wel veel leucocyten dan doet men volgens hem verstandig alvast een antibacillaire dysenterie therapie in te stellen zonder eerst de uitslag van de kweek af te wachten. Dit geldt echter voornamelijk voor acute gevallen. Het bloedbeeld en de kristallen van Charcot-Leyden hebben maar zeer relatieve betekenis daar die zeker niet karakteristiek voor amoebendysenterie zijn. Payne (1945) propageert de rectoscopie als routine onderzoek, maar afgezien van het feit dat deze methode nu niet tot de allereenvoudigste behoort kan hij maar een beperkte betekenis hebben daar in een groot percentage van de amoebendysenterie geen rectum laesies voorkomen.

Infectieproeven op dieren bleken voor diagnostische doeleinden volkomen ongeschikt.

In de diagnostische mogelijkheden der worminfecties is minder verscheidenheid dan in die der protozoëninfecties. Het gaat hier voornamelijk om de meest doelmatige manier van het opsporen der eieren.

Het eenvoudigste is weer het maken van een faecessuspensie in water of, als het om ongekleurde eieren gaat, in een 2 % eosine-oplossing en dit direct onder het microscoop bekijken. Aangezien we hier met betrekkelijk grote objecten te maken hebben is een vergroting van 50 of 60 $\times$ voldoende.

Oude concentratiemethoden maken gebruik van het feit dat eieren zwaarder zijn dan water en vele faecesbestanddelen lichter. Men kan dus een faecessuspensie maken met veel water en dit laten staan. Na enige tijd schenkt men het bovenstaande af en herhaalt dit procédé met vers water net zo lang tot het water helder blijft. Bekijk dan het sediment (Faust en Meloney, 1924).

Men kan de grove partikels er bij het begin uitzeven door een fijn hydrophielgaas en verder het proces versnellen door telkens te centrifugeren in plaats van te laten staan (P e p p e r, 1908).

T e l e m a n n (1908) borduurde voort op dit principe. Hij zocht een vloeistof die een gedeelte van de faecesbestanddelen oplost en die een ander gedeelte doet drijven, terwijl de eieren toch zinken. Hij gebruikte hiervoor een mengsel van gelijke delen sterk zoutzuur en aether. In het sediment vindt men dan naast de wormeieren slechts betrekkelijk weinig detritus. Een nadeel is echter dat de eieren, vooral die met een dunne schaal, door het zoutzuur worden aangetast en beschadigd. Vervanging van het zoutzuur door anti-formine (Y a o i t a, 1912) bleek geen verbetering; minder beschadiging der eieren wordt verkregen als men verdund zoutzuur gebruikt (M i y a g a w a, 1913). L o u g h l i n en S t o l l (1946) verkregen zeer goede resultaten voor alle soorten van wormeieren door een 14 % HCl oplossing te gebruiken met een S.G. van 1.030, dat is veel lager dan dat van wormeieren, en door aan de aether gelijke delen xylol toe te voegen waardoor de eieren beter van de ontlasting loslaten.

Tegenover deze sedimentatiemethoden staan de flottatiemethoden waarbij gebruik gemaakt wordt van een vloeistof met een S.G. groter dan dat der eieren zodat die gaan drijven. B a s s deed dit in 1906 met een verzadigde NaCl oplossing, later (1909) deed hij het met CaCl_2 oplossingen. Hij centrifugeerde eerst een suspensie van faeces in water een paar maal en dan achtereenvolgens in CaCl_2 oplossingen met een S.G. van respectievelijk 1,05 en 1,25, pipetteerde dan de bovenste vloeistoflaag af en onderzocht die of centrifugeerde die eerst nog eens met water en bekeek dan het sediment. Enige vereenvoudigingen werden aangebracht door D a r l i n g (1911) en C o c h r a n (1915), terwijl T a n a m i (1916) weer overging tot de oorspronkelijke NaCl oplossing. K o f o i d en B a r b e r (1918) kwamen op het denkbeeld de oppervlaktelaag niet af te pipetteren doch er met een oogje af te nemen en W i l l i s (1921) liet de eieren tegen het objectglas plakken door dit enige tijd op de vloeistofspiegel te leggen, waarna het gewoon opgetild en omgekeerd kan worden. F ü l l e b o r n (1920) verbeterde de methode van K o f o i d en B a r b e r door de verhouding faeces : NaCl oplossing = 1 : 2 te veranderen in 1 : 20 en zo wordt deze methode

tot op heden toegepast. Het voordeel tegenover de methode van *Telemann* is dat de eieren niet beschadigd worden en het beeld helderder is, een nadeel echter dat de methode voor *Taenia* eieren matige of slechte resultaten afwerpt en voor onbevuchte *Ascaris*-eieren, eieren van *Diphyllobotrium* en van Trematoden absoluut ongeschikt is omdat deze eieren of schrompelen en zinken of zinken omdat ze te zwaar zijn (het S.G. der oplossing is 1,2). De methode van *Fülleborn* is alleen geschikt voor *Ancylostoma*-, bevruchte *Ascaris*-, *Trichocephalus*-, *Hymenolepiseieren* en *Coccidiën-oöcysten*. Andere protozoëncysten worden te veel misvormd. *Günzburg* (1911) kreeg voor *Taeniaeieren* betere resultaten met een verzadigde NH_4Cl oplossing. *Faust* (1938) gebruikt een 33 % ZnSO_4 oplossing. Wat de eieren betreft geeft deze vloeistof met een S.G. van 1,18 wat minder goede resultaten dan de NaCl oplossing maar door het grotere moleculair gewicht treedt in de protozoëncysten minder snel plasmolyse op en zijn deze nog enige tijd goed herkenbaar. Het grote voordeel van deze methode is dus dat hij tegelijkertijd voor bepaalde wormeieren en voor protozoëncysten geschikt is.

Andere vloeistoffen met een hoog S.G. die voor de flottatiemethode werden gebruikt (hoofdzakelijk in de veterinaire praktijk) zijn glycerine (*Vajda*, 1922), waterglas (*Schuchmann* en *Kieffer*, 1922), en een sterk geconcentreerde suikeroplossing (*Sheather*, 1923). (*Yorke* en *Adams*, 1926, gebruikten een suikeroplossing om cysten van Ent. hist. te concentreren voor het aanleggen van een cultuur).

De methode van *Willis* werd door *Lane* (1923) en *Stoll* (1923) zo uitgewerkt dat hij ook bruikbaar werd voor het tellen der eieren in de faeces om zo een betere taxatie van het aantal wormen in de darm te kunnen maken. Als concentratiemethoden voor routine onderzoek zijn ze echter te ingewikkeld.

Hein (1927) paste het denkbeeld van de dikke druppelmethode bij het bloedonderzoek toe op faeces. Men maakt een dik uitstrijkje van faeces laat dat drogen en heldert het beeld op door er een druppel cederolie op te brengen. Deze methode is uitstekend voor *Ascaris*-, *Trichocephalus*- en *Hymenolepiseieren*; *Taenia*- en *Clonorchiseieren* blijven herkenbaar; voor *Ancylostoma*-eieren is deze methode alleen bruikbaar als men het preparaat niet te lang laat drogen, want dan verschrompelen ze (*Peverelli*, 1928).

Eieren van *Enterobius vermicularis* moet men niet in de faeces doch aan de anus zoeken, wat reeds in 1876 door Heller werd gedaan. Het meest bekend is wel de cellophaan swab van Hall (1937). In het Instituut voor Tropische Hygiëne te Amsterdam wordt de knots van Swellengrebel-Schüffner (1942) gebruikt die voor een laboratorium veel gemakkelijker is en bovendien betere resultaten geeft. Ook *Taeniae*eieren komen over het algemeen niet met de ontlasting vrij maar zouden nog al eens aan de anus te vinden zijn (Podyapolskaya, 1943; Mazotti, 1944).

Het laten uitkomen van eieren om dan de bewegelijke larven te zoeken wordt toegepast bij *Ancylostoma*- en *Schistosoma*-eieren. Looss (1897) liet faeces vermengd met dierlijke kool 24 uur staan, roerde intussen een paar maal om en liet de zaak dan aan de lucht drogen tot dat er een dunne vaste korst op was gevormd. Daarna goot hij er water op en dit werd na een kwartier afgeschonken. Dit werd enige malen herhaald. In het afgegoten water zitten *Ancylostoma*-larven. Door dit water enige tijd te laten staan zakken de larven op de bodem. Brug (1921) laat de ontlasting 2 dagen staan en hangt die dan in een gaas op in een puntglas met lauw water. Na één à twee uur kan men het sediment bekijken. (Zie ook Bruns, 1911 en Baermann, 1917). Ontlasting met *Schistosoma* eieren kan men een paar maal decanteren met physiologische zoutoplossing en als de bovenstaande vloeistof helder is, deze vervangen door lauw water. De miracidiën kruipen dan uit hun eieren en men kan ze met een loupe zien zwemmen (Faust en Meleney, 1924).

Complementbindingsreacties voor de wormen die in de darm leven zijn er wel maar voor de praktijk van geen belang (zie Faust, 1939a).

Eosinophilie in het bloed kan een vingerwijzing zijn voor ingewandswormen; speciaal bij een infectie met *Strongyloides stercoralis* kan deze zeer sterk zijn.

HOOFDSTUK III

VOORZORGEN

Wil men met het protozoën onderzoek niet te eniger tijd vastlopen, dan moet het instrumentarium aan zekere minimumeisen voldoen (Langeron en Du Noyer, 1930).

Het microscoop moet uitgerust zijn met twee objectieven voor droog systeem en één olieïmmersie, terwijl twee verschillende oculairs die 5 en 10 maal vergroten gewenst zijn, zodat men verschillende vergrotingen variërende tussen 50 en 1000 maal tot zijn beschikking heeft. Een kruistafel is onmisbaar om een preparaat systematisch te kunnen doorzoeken. Wenst men een preparaat nauwkeurig af te zoeken, dan is het aan te bevelen, het gezichtsveld van rond rechthoekig te maken. Men knipt dan eenvoudig van zwart papier een rechthoekig diaphragma en legt dat in het oculair. Onmisbaar is ook een oculair-micrometer waarvan men de micrometer waarden bij de verschillende objectieven bepaald moet hebben (dit doet men met behulp van een objectiefmicrometer). De deklazen moeten dunner zijn dan 0,18 mm, anders zijn ze te dik voor de olieïmmersie.

Als reagentia heeft men nodig een 2 % eosine oplossing in water en een jodium oplossing van 2 % in 3 % KJ (2J, 3KJ, 100H₂O; vaak wordt de slappere oplossing van Weigert gebruikt: 1J, 2KJ, 100H₂O; zie ook d'Antoni, 1937). Ter voorkoming van misverstand zij er op gewezen, dat de lugol die gebruikt wordt voor de bacteriologische kleurmethode beslist te slap is voor protozoën onderzoek (1J, 2KJ, 200H₂O). Voor het concentreren heeft men een 33 % ZnSO₄ oplossing in water nodig plus een centrifuge (ook een goede handcentrifuge is te gebruiken).

Het eosinepreparaat moet ongeveer de dikte hebben van de te onderzoeken partikels; voor wormeieren kan men dus een dikker

preparaat maken dan voor protozoën. De bedoeling is immers dat het bewuste voorwerp ongekleurd afsteekt tegen de rode achtergrond, maar dan mag er zich niet te veel eosine voor en achter bevinden. Men maakt zo'n preparaat het beste door een weinig faeces op een lucifersstokje of een lidi in een druppel eosine op het objectglas te deppen totdat de vloeistof egaal troebel is. Dan wordt het dekglas er op gelegd en door voorzichtig tikken met de achterkant van de vingernagel aangedrukt. Het preparaat moet nu tegen een witte achtergrond gehouden, lichtrose van kleur zijn. Is het rood of is er zelfs een oranje tint bij dan is het te dik. Men heeft dan te veel eosine genomen. Men moet gemakkelijk door het preparaat heen kunnen kijken, anders zit er te veel faeces in. Dit laatste gebeurt vooral als men niet licht dept maar de faeces op het glas wrijft.

Aangezien de protozoën weinig lichtbrekend zijn moet men met zwakke verlichting werken. Dit kan men regelen door het diaphragma te vernauwen of door de condensor van *A b b e* naar beneden te draaien. Het laatste verdient naar onze ervaring de voorkeur. Bij 100 malige vergroting kan men de *A b b e* geheel omlaag draaien, bij de grotere vergroting is natuurlijk weer meer licht nodig, ervaring zal hier de weg moeten wijzen. In het rode preparaat blijven ongekleurd alle partikels die voor eosine impermeabel zijn en geen eigen kleur bezitten. Door het simultaan contrast kunnen deze partikels enigszins de complementaire kleur tonen, i.c. groenachtig. Ongekleurd blijven:

1. levende protozoën, Ancylostoma- en Hymenolepiseieren, Strongyloideslarven;
2. levende leucocyten en darmepitheelcellen;
3. luchtbellen, vetdruppels, zetmeelkorrels, kristallen en sommige plantenresten als haren e.d.

Het zijn vooral de leucocyten en epitheelcellen die moeilijkheden kunnen geven bij de differentiële diagnose met vegetatieve protozoën. Ziet men geen beweging en niet duidelijk de typische kern dan is men ook niet gerechtigd het bewuste object voor een protozoön te houden. Het preparaat wordt doorgezocht met een vergroting van 100 maal en alle verdachte partikels worden met een sterkere vergroting bekeken. Meestal zal men voor de definitieve diagnose de olieïmmersie niet kunnen ontberen.

Het maken van het jodiumpreparaat geschiedt op dezelfde wijze als bij het eosinepreparaat. Men maakt het echter alleen als in het eosinepreparaat cysten waren gevonden zonder dat hun aard met zekerheid kon worden vastgesteld. Voor amoeben brengt het jodiumpreparaat geen nieuw licht, bij vegetatieve flagellaten worden de zweepdraden zichtbaar.

De ontlasting moet vrij van urine in een schoon en droog receptaculum worden opgevangen. Men zal dan nauwkeurig moeten kijken of er slijmvlokjes, eventueel bloedige slijmvlokjes aanwezig zijn, daar het juist deze zijn die men moet hebben. Mengt men wat faeces met water in een petrischaal dan kan men de slijmvlokjes er gemakkelijker uitvissen. Met een puntig voorwerp (de punt liefst gebogen) wordt een klein vlokje er afgepikt en in een druppel eosine onder een dekglas bekeken. Heeft men met amoebendysenterie te maken dan zal men bijna zeker amoeben vinden en meestal is er dan ook wel één bij die rode bloedlichaampjes bevat. Men doet verstandig alleen amoeben als *Ent. histolytica* te diagnosticeren als er rode bloedlichaampjes in worden gevonden of als de typische cysten aanwezig zijn. In het slijm zal men overigens nooit cysten vinden en omgekeerd daarbuiten zelden histolytische vormen. Is er geen slijm bij de ontlasting dan pikt men met een lucifersstokje wat faeces op en maakt een preparaatje als boven beschreven. Daarbij moet men in gedachten houden dat gevormde ontlasting over het algemeen geen vegetatieve vormen bevat en diarrhoeïsche ontlasting geen cysten. In Indië zal het maken van dunne preparaten vaak moeilijkheden ondervinden door de aanwezigheid van kleine korreltjes afkomstig van de banaan. Men verschuive dan het dekglas, de vloeistof gaat mee en de korreltjes blijven achter (Brug, 1935).

De ontlasting mag niet gemengd zijn met urine omdat daardoor de protozoën veel sneller doodgaan (Watson, 1945). Het receptaculum moet schoon en droog zijn daar anders kans bestaat op een verontreiniging met vrij levende protozoën en die zijn vaak lastig van de parasitaire soorten te onderscheiden (Hegner, 1926). De ontlasting moet vers nagekeken worden, zeker als de consistentie dun is en men vegetatieve vormen verwachten kan. Kan de faeces niet direct worden nagekeken dan is het het beste het monster zo lang in de ijskast te zetten, cysten blijven dan dagen tot weken lang leven (Tsuchiya, 1945).

Men moet er rekening mee houden, dat ook in verse ontlasting cysten of eieren kunnen voorkomen niet afkomstig van menselijke parasieten maar opgenomen met het voedsel. We spreken dan van passanten. Bekend in dit verband zijn bijv. *Eimeria sardinae* en *Eimeria clupearum*, coccidiën van de vis, die bij de mens als nieuwe parasieten zijn beschreven (Thomson en Robertson, 1926). Ook mijteneieren komt men wel eens tegen bij het faecesonderzoek, soms zelfs mijten en vliegen larven. Bij kinderen die soms aarde in hun mond stoppen, kan men verrast worden door het vinden van slakken en aardwormen (Thomson, 1926).

Stuifmeel en sporen van verschillende planten kunnen aan wormeieren doen denken, lichaamscellen aan amoeben en gistcellen en schimmelcellen aan cysten. Ook blastocysten kunnen bij kleine vergroting gemakkelijk voor protozoëncysten worden gehouden, al zal men na enige ervaring reeds bij kleine vergroting het verschil in brekingsindex kunnen waarden. Houdt men vast aan de karakteristieke kenmerken der verschillende parasieten dan zal men bij nauwkeurig onderzoek zelden in twijfel blijven verkeren.

Heeft men te maken met ontlasting met bloedig slijm dan heeft een éénmalig onderzoek veel meer waarde dan bij normaal gevormde faeces. Hebben we nl. in het eerste geval te maken met amoebendysenterie dan zal men in zo'n slijmvlokje bijna altijd amoeben vinden. In het tweede geval echter zegt één negatieve vondst niet veel. De cystenvorming geschiedt niet constant en perioden waarin weinig of geen cysten worden gevormd wisselen af met die waarin er vele worden gevormd. De ervaring heeft nu geleerd dat men voor de praktijk minstens 3 maal en liefst 6 maal op verschillende dagen de ontlasting moet hebben onderzocht voordat tot de waarschijnlijke afwezigheid van de parasiet mag worden besloten.

Uit bovenstaande volgt ook dat het aantal gevonden cysten van geen belang is. Waar er de ene keer weinig in de ontlasting aanwezig zijn, kunnen er een volgende keer vele zijn. Dit in tegenstelling met de wormeieren. De meeste wormen vermenigvuldigen zich niet in het menselijk lichaam en leggen dagelijks een vrijwel constant aantal eieren. Het aantal eieren in de ontlasting maakt dus een taxatie van het aantal wormen mogelijk, wat van belang is, daar de pathogeniteit der wormen meestal bepaald wordt door hun aantal.

HOOFDSTUK IV

DE GEVOLGDE TECHNIEK

Voor het rechtstreekse onderzoek werd gebruikt een 2 % waterige eosineoplossing. Werden in zulk een preparaat cysten gevonden, dan werd een jodiumpreparaat gemaakt (2J, 3KJ, 100H₂O). Ter controle van de diagnose werd ook een preparaat gekleurd en wel met haematoxyline volgens Delafield:

1. Het dunne faeces uitstrijkje wordt, voordat het heeft kunnen uitdrogen, 10 min. gefixeerd in de vloeistof van S c h a u d i n n.
2. Daarna even spoelen in stromend water.
3. 10 min. in 70 % alcohol waaraan zoveel jodium is toegevoegd, dat de vloeistof een portkleur heeft.
4. Even spoelen in stromend water.
5. 5 minuten in een 0,2 % waterige Na.HSO₄ oplossing.
6. Even spoelen in stromend water.
7. Ongeveer een half uur kleuren in een 10 maal verdunde Delafieldoplossing.
8. Spoelen in stromend water, minstens een half uur, liefst een hele nacht.
9. Ontwateren: 1 minuut in 96 % alcohol, 1 minuut in absolute alcohol, 1 minuut in kajoepoetiolie.
10. Insluiten in canadabalsem of caedax.

Meestal wordt een langduriger ontwateringstechniek aanbevolen, bv. achtereenvolgens telkens enige minuten in 60, 70, 80, 95 % en absolute alcohol, waarna 1 minuut in xylol. De ervaring heeft ons geleerd dat de eerste 4 trappen zonder bezwaar overgeslagen kunnen worden en dat kajoepoetiolie in plaats van xylol het grote voordeel heeft dat het preparaat niet absoluut watervrij behoeft te zijn, terwijl dit bij xylol noodzakelijk is.

Vloeistof van Schaudinn: verzadigde waterige sublimaat-oplossing 2 delen, spiritus fortior 1 deel, ijsazijn 5 %.

Oplossing van Delafield: 1g haematoxyline oplossen in 6cc alcohol absolutus (vloeistof A); 15g ammoniakaluin (sulfas ammonico aluminicus) oplossen in 100cc warm water, afkoelen en filtreren (vloeistof B). A en B mengen, 3 dagen goed aan licht en lucht blootstellen, filtreren, met aqua destillata aanvullen tot 100cc, 25cc glycerine en 25cc. methylalcohol toevoegen, na 3 dagen weer filtreren, 14 dagen tot 1 maand laten rijpen. Ook daarna neemt de kleurkracht nog toe. De onverdunde Delafield is maandenlang bruikbaar. Om te kleuren kan men beter 5—10 maal met water verdunnen. De verdunde oplossing is ten minste een maand bestendig en kan verschillende malen gebruikt worden.

In bijzondere gevallen werd wel eens gekleurd met ijzerhaematoxyline volgens Heidenhain:

1. Fixeren als bij Delafield.
2. 12—24 uur beitsen in een 3 % ijzeraluinoplossing (sulfas ammonico-ferricus. 24 H₂O).
3. Een half uur spoelen in stromend water.
4. 4—12 uur kleuren met de oplossing van Heidenhain.
5. Een half uur spoelen in stromend water.
6. Differentiëren in 1½ % ijzeraluinoplossing onder microscopische contrôle.
7. Ontwateren en insluiten als bij Delafield.

Oplossing van Heidenhain: 1g haematoxyline oplossen in 10cc alcohol absolutus, mengen met 90cc aqua destillata, 3 dagen laten staan blootgesteld aan licht en lucht, 14 dagen tot 1 maand laten rijpen in een gesloten fles. De oplossing van Heidenhain is slechts eenmaal te gebruiken. Het eenvoudigste is het preparaat omgekeerd aan één zijde op een dun glasplaatje te laten steunen en de kleurstof er onder te laten lopen.

Geconcentreerd werd volgens de methoden van Bayer, Faust, Otto en een vereenvoudiging van de methode van Faust.

Methode van Bayer:

1. In een mortier een suspensie maken van 1 à 2g faeces in 10cc water.
2. Toevoegen 10cc vloeistof van Bayer, roeren, even laten bezinken en afschenken in een scheidtrechter.

3. 10 à 15cc aether toevoegen en 3 minuten goed schudden (af en toe stop aflichten) 5 à 10 minuten laten staan en dan de onderste vloeistoflaag in een centrifugebuis laten aflopen.
4. 2 minuten centrifugeren.
5. Vloeistof afgieten en sediment bekijken.

Vloeistof van B a y e r:

Chloretum cupricum

Acetas cupricus	aa	2.—
formol		100.—
aq. camphor.		500.—
aq. dest.		400.—
acid. acet. glac.		12.—

Methode van F a u s t:

1. In een mortier en suspensie maken van een hoeveelheid faeces ter grootte van een erwt in een paar cc water.
2. Dit filtreren door een vochtig hydrophielgaas in een centrifugebuis.
3. Aanvullen met water tot ongeveer $\frac{1}{2}$ cm van de rand (verhouding faeces—water moet ongeveer 1 : 10 zijn).
4. 1 minuut centrifugeren met een snelheid van ongeveer 2500 touren per minuut.
5. De vloeistof afgieten en het sediment suspenderen in vers toegevoegd water.
6. Weer 1 minuut centrifugeren.
7. Het procédé zo lang herhalen tot de bovenstaande vloeistof helder is (3 à 5 keer).
8. Nu het sediment suspenderen in een waterige 33 % ZnSO_4 oplossing.
9. 2 minuten centrifugeren.
10. Op een objectglas een klein druppeltje jodiumoplossing (als bij rechtstreeks onderzoek gebruikt) doen, nu 2 of 3 maal met een oogje wat van de oppervlakte van het centrifugaat afnemen en mengen met de druppel jodium. Dekglas er op en bekijken.

In de methode zoals F a u s t c.s. die in hun eerste publicatie beschreven bracht ik enkele kleine wijzigingen van geen principiële betekenis. F a u s t suspendeerde nl. door de faeces flink te schudden in wat water. Hierbij ontstaat echter veel schuim en bij harde ontlasting valt deze methode niet mee. Ten tweede centrifugeert F a u s t

bij de punten 4 en 6 slechts 45 seconden en bij punt 9 slechts 60 sec. Het leek mij voor de praktijk eenvoudiger iets langer dan deze minimum tijden te centrifugeren. Bij punt 9 komt het er niet zo erg op aan hoe lang men centrifugeert indien het slechts langer dan 1 minuut bij een snelheid van 2500 touren per minuut is. Bij 4 en 6 is het echter wel zaak niet te lang te centrifugeren daar anders het sediment zo erg vast wordt en daardoor moeilijker weer te suspenderen is.

Methode van *O t t o*: Er wordt een suspensie gemaakt van faeces direct in de 33 % ZnSO_4 oplossing. Deze suspensie laat men een uur staan in een wijd buisje, neemt dan met een oogje materiaal van de oppervlakte af en bekijkt dat in jodium als bij *F a u s t*.

Vereenvoudigde methode van *F a u s t*.

Het leek ons nuttig ook nog een middenweg tussen de methoden van *F a u s t* en *O t t o* te beproeven. Onze methode was als volgt: Een erwtgroot stuk faeces suspenderen in een mortier met wat 33 % ZnSO_4 oplossing. Drijft hier veel detritus aan de oppervlakte dan filtreren door een hydrophielgaasje, maar meestal is dat niet nodig en kan men direct afschenken in een centrifugebuis. Aanvullen met 33 % ZnSO_4 oplossing tot een $\frac{1}{2}$ cm van de rand en 2 minuten centrifugeren, met een oogje materiaal van de oppervlakte afnemen en in jodium bekijken.

Een voordeel bleek te zijn het dekglas met één zijde op het objectglas te laten steunen tegen de druppel aan en dan te laten vallen. Meestal zullen dan verreweg de meeste eieren en cysten liggen in de helft van het preparaat grenzend aan de genoemde zijde.

De 33 % ZnSO_4 oplossing (331 g ZnSO_4 aanvullen met H_2O tot 1000 cc of 371 g ZnSO_4 plus 1000 cc H_2O) moet een S.G. hebben van 1.18.

Voor het concentreren van wormeieren werd de methode van *F ü l l e b o r n* gebruikt:

Een suspensie van faeces met een verzadigde NaCl oplossing in water in een verhouding van ongeveer 1 : 20. Deze drie kwartier in een wijd buisje laten staan, met een oogje materiaal van de oppervlakte afnemen en dat zonder dekglas bekijken.

Daarnaast werd een faecesuitstrijkje op een objectglas gemaakt, een half uur gedroogd aan de lucht, bedekt met paraffinum liquidum en zonder dekglas bekeken.

Een serie personen werd gelaxeerd, waarna de ontlasting werd

onderzocht. Als laxeermiddel werd 20 g MgSO_4 gebruikt en dit werd 's morgens om 6 uur toegediend. Voor 9 uur hadden de meesten gedefaeceerd en de ontlasting was over het algemeen dun breiig tot dun vloeibaar. Deze werd dan zo spoedig mogelijk nagekeken, zodat de tijdsduur tussen defaecatie en microscopisch onderzoek nooit groter was dan 2 uur.

Voor onderwijsdoeleinden werd soms een cultuur aangelegd en de beste resultaten werden bereikt met de leverinfuusagar van Cleveland en Collier. (Difco Entamoeba Medium). Hiervan werd een vaste schuine voedingsbodem gemaakt, waarop een vloeibaar medium van paardenserum verdund met de oplossing van Ringer (1 : 6). Vlak voor het gebruik werd nog wat rijstzetmeel toegevoegd.

Voor het stellen der diagnose werden de volgende regels in acht genomen.

Bij Entamoeba werden één en vierkernige cysten als *E. histolytica* geklassificeerd en achtkernige cysten als *E. coli*. Een heel enkele keer werd hiervan afgeweken, nl. als bij aanwezigheid van vele twee- en achtkernige cysten ook enkele vierkernige werden gevonden met relatief grote kernen werden deze ook als *E. coli* beschouwd. Ook een éénkernige cyste moest eens vanwege het aspect der cyste als *E. coli* worden benoemd. Herhaald onderzoek dezer gevallen leverde geen *E. histolytica* op. Zo moest ook eens een achtkernige cyste als *E. histolytica* worden gerekend.

De Entamoeba cysten tussen 6 en 8 μ groot werden als *E. tenuis* beschouwd.

Wat de vegetatieve vormen betreft werd, omdat hier nimmer sprake was van amoeben met rode bloedlichaampjes, de differentiële diagnose *E. histolytica* — *E. coli*, alleen gesteld als tevens de cysten aanwezig waren. Voor de diagnose der vegetatieve *E. tenuis* werd verlangd, dat de amoebe kleiner dan 10 μ was, terwijl de haematoxylinekleuring uitsluitsel moet geven voor de differentiële diagnose met de *Endolimax* soorten.

Joodcysten en Lambliacysten leverden bij het rechtstreekse onderzoek zelden moeilijkheden op en ook *Chilomastix* cysten zijn meestal goed te herkennen. De diagnose *End. nana* cysten werd gesteld op die kleine cysten waarbij in jodium geen kernen te zien waren. Het

zwakke punt hierbij is, dat een cyste beoordeeld wordt naar iets negatiefs, het niet zien van kernen. Daar tegenover staat, dat alle andere cysten kunnen worden herkend aan positieve kenmerken, dat de vorm der End. nana cysten over het algemeen vrij typisch is en dat bij dit onderzoek ook altijd een preparaat gekleurd werd waarbij de diagnose kon worden bevestigd. De ervaring leerde daarbij, dat als men op zijn jodiumoplossing kan vertrouwen bij het rechtstreekse onderzoek de diagnose End. nana cyste heel goed is te stellen.

Voor de vegetatieve vormen geldt dat helaas niet. Aan amoeben als Ent. tenuis, End. nana en Dient. fragilis is bij het rechtstreekse onderzoek zelden iets typisch te zien, bijgevolg werd de diagnose hiervan alleen op het gekleurde preparaat gesteld.

De vegetatieve vormen der verschillende flagellaten zijn vrij gemakkelijk te herkennen, *Trichomonas* aan zijn undulerende membraan, *Chilomastix* aan zijn cytostoom, dat zich in eosine rose voordoet en *Lambli*a aan zijn eigenaardige vorm.

Voornamelijk voor onderwijsdoeleinden werd vaak gebruik gemaakt van de methode van Brug (1921) voor het aantonen van een mijnworm- of een strongyloides stercorales infectie. De faeces wordt dan, gemengd met wat dierlijke kool, in een vrij dunne laag uitgestreken op de bodem van een petrischaal, terwijl in het deksel een vochtig stuk filtreerpapier wordt gelegd. De gesloten petrischaal wordt dan gedurende 2 dagen in de broedstoof gezet, liefst bij 26° C. (In de tropen kan men de schaal natuurlijk zo weg zetten). Nu wordt alle faeces uit de petrischaal in een hydrophielgaas opgehangen in een puntglas gevuld met lauw water zo, dat de faeces geheel onder water hangt. Na 1 à 2 uur wordt het water afgegoten en de achterblijvende sedimentdruppel op een objectglas gebracht en onder het microscoop bekeken. Zowel voor mijnworm- als voor *Anguillula*larven is deze methode zeer geschikt, met deze restrictie, dat de ontlasting niet eerst enige tijd in de ijskast heeft gestaan, daar èn de mijnwormeieren èn de *Anguillula*larven dat vaak spoedig met de dood moeten bekopen. Gaat het alleen om *Anguillula*'s, dan kan men de verse ontlasting direct in het water ophangen.

HOOFDSTUK V

EIGEN ONDERZOEK

Zoals uit het voorgaande al is gebleken stelt het opsporen van darmprotozoën de onderzoeker voor verschillende mogelijkheden en problemen. Welke methode van onderzoek heeft de voorkeur en hoe vaak moet men bij een negatieve uitkomst het onderzoek herhalen? Velen hebben daar een verschillende mening over, maar de meest gangbare opvatting was toch wel dat het rechtstreekse onderzoek als routinemethode de voorkeur verdiende, dat wil dus zeggen het maken van een faecessuspensie in een physiologische zoutoplossing of een 2 % waterige eosineoplossing en in een jood-joodkalioplossing met een jodiumpercentage van minstens 1 %. Bij negatieve resultaten moet het onderzoek tot 6 maal toe op verschillende dagen worden herhaald. Na een 6 malig onderzoek zouden bijna alle infecties zijn opgespoord (D o b e l l, 1917) en voor een geoefende onderzoeker kost deze alles behalve ideale werkwijze altijd nog minder tijd en vooral ook minder moeite dan welke andere werkwijze ook. Want al zal men dan met andere methoden het onderzoek eventueel minder vaak behoeven te herhalen, met een eenmalig onderzoek komt men toch nooit uit en elke bewerking op zich zelf is vele malen omslachtiger en tijdrovender dan het maken en nakijken van een rechtstreeks preparaat, terwijl dit laatste toch niet achterwege kan blijven met het oog op de mogelijke aanwezigheid van vegetatieve vormen.

F a u s t en medewerkers publiceerden in 1938 een concentratiemethode die zeer effectief zou zijn en daarbij niet al te veel extra tijd vergde. F a u s t meent dat de voordelen ruimschoots tegen de nadelen opwegen en de nieuwe werkwijze voor het routine onderzoek is aan te bevelen. Nu zegt dat op zich zelf niet veel daar elke nieuwe concentratiemethode door de uitvinder zelf werd geroemd en voor

routine onderzoek aanbevolen. De resultaten die *F a u s t* met zijn concentratiemethode verkreeg waren veelbelovend en het leek ons zeer de moeite waard deze methode op zijn waarde voor de praktijk te toetsen. Bovendien had deze zinksulfaat-flottatiemethode nog het voordeel ook succes te hebben bij de eieren van verschillende wormsoorten, voornamelijk die, waarvoor gewoonlijk de methode volgens *F ü l l e b o r n* of die volgens *L a n e* (flottatie met een NaCl oplossing) wordt gebruikt.

Nu kost de werkwijze volgens *F a u s t* toch altijd nog een behoorlijk quantum aan tijd. Eerst wordt een faecessuspensie in water gemaakt, die wordt door een vochtig hydrophielgaasje gezeefd in een centrifugebuis, er wordt minstens 45 seconden op $\pm$ 2500 touren per minuut gecentrifugeerd, de vloeistof wordt afgeschonken en het sediment opnieuw gesuspenderd in vers water, enz. tot na 4 of 5 keer de vloeistof helder blijft, nu wordt gesuspenderd in de zinksulfaat-oplossing en daarna minstens 60 sec. gecentrifugeerd en nu kan eindelijk het onderzoek beginnen. Deze voorbereiding kost minstens 15 à 20 minuten tijd en aangezien de handelingen vele zijn en snel op elkaar volgen is het onmogelijk ondertussen iets anders te doen.

In 1941 publiceerden *O t t o* en medewerkers een modificatie van *F a u s t*'s methoden waarmee zij ook goede resultaten verkregen maar waarbij de factor tijd buitengewoon werd verkleind, de tijd van voorbereiding werd tot slechts 1 à 2 minuten teruggebracht. Op één na werden alle bovenstaande handelingen als overbodig achterwege gelaten. Het zeven, het uitwassen met water en het centrifugeren werden overboord gegooid. *O t t o* maakte direct een suspensie van faeces in de zinksulfaat oplossing en liet die een uur staan. Dit uur laten staan is geen tijdverlies omdat er in die tijd niet naar omgekeken behoeft te worden. Indien de methode van *O t t o* werkelijk behoorlijke resultaten geeft zou hij wel zeer aantrekkelijk zijn.

Soms zal men er echter prijs op stellen een uitslag snel te willen weten en het zou dus de voorkeur verdienen als ook de wachttijd van een uur kon worden geëlimineerd. Deze mogelijkheid lag mijns inziens voor de hand. In plaats van de suspensie zo te laten staan kan men 1 à 2 minuten centrifugeren. Waar ook een goede handcentrifuge een tourental van meer dan 2000 per minuut kan halen leek

mij dit geen praktisch bezwaar op te leveren; men moet dan minstens 2 minuten centrifugeren.

Zo werd besloten deze drie werkwijzen naast elkaar toe te passen (de laatste zal in het vervolg worden aangegeven als de vereenvoudigde methode van *F a u s t*) en hun resultaten te vergelijken met die verkregen met het eenvoudige rechtstreekse onderzoek in een 2 % eosine- en een 2 % jodium oplossing.

Voor zover in Indië en in Nederland een concentratiemethode werd gebruikt gaf men over het algemeen de voorkeur aan de methode van *B a y e r*. Deze methode heeft in het buitenland nooit ingang kunnen vinden, hoewel de resultaten vrij behoorlijk zijn al zouden die minder goed zijn naar mate de aanwezige cysten groter waren. Ook deze methode wilde ik nogmaals op zijn waarde toetsen en vergelijken met de drie bovengenoemde.

Als controle op de diagnose, vooral ook in eventuele twijfelgevallen, achtte ik het nuttig een gekleurd preparaat te maken, waarvoor ik de voorkeur gaf aan de haematoxylinekleuring volgens *D e l a f i e l d*. Deze kleuring mag dan voor fijnere cytologische studies niet altijd voldoen, voor het stellen van een diagnose is hij zeer geschikt, terwijl hij vergeleken bij vele andere kleuringen vrij eenvoudig is.

In de praktijk gaat het voornamelijk om *Entamoeba histolytica* en om *Lamblia intestinalis*, maar bovengenoemde concentratiemethoden gelden voor alle soorten cysten der menselijke darmprotozoën en om nu zoveel mogelijk vergelijkingsmateriaal te verkrijgen werden alle darmprotozoën in het onderzoek betrokken. Aangezien het reeds lang bekend was dat een groot deel der Nederlanders protozoën in hun ingewanden herbergen moest het dus zeer goed mogelijk zijn voldoende materiaal te verkrijgen al zou het percentage *histolytica* infecties dan wel vrij laag zijn. Hiermede moest ik wel genoegen nemen zolang de bezetting onzer landen door de vijand voortduurde en contact met Indische verlofgangers of met zeelui die op de tropen varen, met hun veel veelvuldiger voorkomende *histolytica* infecties, tot de onmogelijkheden behoorde.

Een goede leverancier van faecesmonsters bleek de psychiatrische afdeling van het Wilhelmina Gasthuis te zijn. Een bijkomstig voordeel dezer bron is dat de patiënten van deze afdeling geen speciale afwijkingen vertonen wat betreft hun tractus digestivus en dus op dit punt vergelijkbaar zijn met normale burgers. Bijgevolg kunnen

protozoën vonden bij deze patiënten tevens doorgaan als algemeen geldig voor de Amsterdamse bevolking. Wel wordt er in de literatuur herhaaldelijk op gewezen, dat in krankzinnigengestichten de infectie index van darmprotozoën hoger wordt naarmate de patiënten langer in het gesticht verblijven, doch dit wordt pas merkbaar als de duur der inwoning een jaar overschrijdt en daar is in het W.G. nooit sprake van (Svensson, 1928). Ook het Onze Lieve Vrouwe Gasthuis en het Burgerziekenhuis konden een bijdrage, zij het in veel bescheidener mate, van geschikte faecesmonsters leveren. Tenslotte droegen nog cursisten van het Tropen Instituut hun steentje bij om aan mijn verlangen naar faecesmonsters te voldoen. Zo gelukte het mij elke week 8 à 12 monsters ontlasting van verschillende personen te verzamelen.

Waar ik hier bijna altijd met goedgevormde ontlasting van mensen zonder buikklachten te doen had, vegetatieve vormen over het algemeen dus niet waren te verwachten en concentratiemethoden alleen voor cysten bruikbaar zijn, hield ik geen rekening met vegetatieve vormen. De faecesmonsters werden voor zover ze niet onmiddellijk bewerkt konden worden in de ijskast bewaard, de bewerking geschiedde echter altijd binnen 4 of 5 dagen. Bovendien werd de eerste dag van alle monsters een eosinepreparaat en zo nodig een jodiumpreparaat gemaakt. Hoe verser de cysten hoe beter de haematoxylinekleuring wordt. Daarom werd altijd begonnen met de kleuring van twee preparaatjes. Was het ontlastingmonster aan de beurt voor de reeks concentratieproeven, dan werd nogmaals eerst een eosinepreparaat gemaakt en dan bleek het aantal cysten nooit merkbaar verminderd. Wel verandert er iets in de cysten door het laten staan. Chromidiën en glycogeen, die men daarom als reservevoedsel pleegt te beschouwen, verdwijnen geleidelijk. Kweekproeven hebben bewezen, dat cysten bij 4° C bewaard na een week praktisch altijd nog levensvatbaar zijn ¹⁾. De aanwezigheid van chromidiën en glycogeen is voor de herkenning der cysten van belang, maar ook bij afwezigheid hiervan is herkenning meestal heel goed mogelijk. Alleen joodcysten (s.

¹⁾ D o b e l l bezit een Ent. histolyticakweek waarvan hij de amoeben zich naar willekeur kan laten encysteren. Om nu werk en voedingsbodems uit te sparen, zet hij de cysten een maand in de ijskast bij 10° C weg, laat daarna de cysten uitkomen en laat de amoeben zich na een week weer opnieuw encysteren waarna de cultuur weer naar de ijskast verhuist.

End. williamsi of Jodamoeba bütschlii) zonder glycogeen zijn lastig te herkennen, maar indien niet langer dan een paar dagen in de ijskast bewaard rest er altijd nog genoeg glycogeen in deze cysten om met jodium duidelijk bruin te kleuren. Ook met de concentratieproeven merkte ik geen verschil op of dit op de eerste of op de vijfde dag geschiedde. Het bleek dus geen bezwaar als niet alle faeces onmiddellijk volledig kon worden bewerkt en gedeeltelijk een paar dagen in de ijskast moest worden bewaard. Trouwens ook bij kamertemperatuur blijven cysten wel een paar dagen goed ¹⁾, maar dan krijgt men veel meer last van schimmels en gistcellen die het onderzoek bemoeilijken, terwijl een enkele keer de cysten binnen 3 dagen al dood zijn zoals ik eens bij Lamblia's kon waarnemen.

Behalve het aantal extra positieve vondsten die de concentratiemethoden zouden opleveren, was het ook gewensd te weten, hoe sterk het concentrerend vermogen was, dat wil zeggen, welke verhouding er bestond tussen het aantal cysten gevonden door middel van concentratie en het aantal cysten gevonden in het eosinepreparaat. Hiervoor moesten de cysten geteld worden. Het gemakkelijkste is daarvoor het gezichtsveld vierkant te maken. Als beste oppervlakte eenheid leek mij het gezichtsveld bij 100 malige vergroting en de cysten dichtheid werd uitgedrukt in: zoveel cysten per gezichtsveld. Was het aantal cysten zeer groot, dan werd met het sterke droge systeem of met de olieïmmersie geteld en de gevonden waarden daarna omgerekend tot de aangenomen eenheidsmaat. Bij de kleine cysten werden de tellingen nooit met de kleine vergroting verricht, omdat er dan te veel over het hoofd gezien worden en de telling te onnauwkeurig zou zijn. Niet alle positieve gevallen liet ik in aanmerking komen voor het bepalen van de concentratiegraad, maar alleen die gevallen waarbij in het eosinepreparaat zoveel cysten aanwezig waren dat met enige nauwkeurigheid het aantal cysten per gezichtsveld aangegeven kon worden zonder dat het toeval hierbij een te grote rol

¹⁾ Voor het onderzoek op cysten kan men binnenslands gerust de ontlasting zonder meer per post versturen. Voor vegetatieve vormen moet men de ontlasting fixeren. Men kan een dun faecesuitsmijtelijke maken en dit direct, zonder uit te laten drogen, fixeren in de vloeistof van Schaudinn en dan versturen in 75 % alcohol of men kan het materiaal in een flesje flink mengen met een tienvoudige hoeveelheid van een 1 % jodiumoplossing in 2 % joodkali en zo verzenden (Brug, 1921).

zou spelen. Immers als ik bij voorbeeld in een concentraat 100 cysten vind in het gehele preparaat dan maakt het een groot verschil of er in het eosinepreparaat 1 of 3 waren gevonden. In het eerste geval zou ik als concentratiegraad 100, in het tweede geval 33 moeten aangeven. Dergelijke uitkomsten zouden geen waarde hebben, zelfs niet bij een zeer groot aantal waarnemingen, daar als er in eosine geen cysten worden gevonden, en 0 of 1 is maar een minimaal verschil, de concentratiegraad helemaal onberekenbaar wordt. Het dekglas legde ik altijd op de in hoofdstuk IV beschreven manier neer, waardoor bij de zinksulfaat methoden verreweg de meeste cysten in het linker $\frac{1}{3}$ gedeelte van mijn preparaat lagen. Het was in dit gedeelte dat ik daarbij het aantal cysten per gezichtsveld bepaalde. Hier volgt een voorbeeld zoals deze waarnemingen werden genoteerd en berekend.

	eosine	concentraat	concentr. vermogen
1. Ent. coli	2	34	—
2. Ent. hist	$\frac{1}{3}$	$\frac{8}{1}$	24 $\times$
3. Joodcysten	$\frac{4}{1}$	$\frac{75}{1}$	19 $\times$
4. Lamblia	$\frac{20}{1}$	$\frac{325}{1}$	16 $\times$

In geval 1 werden met eosine 2 cysten in het gehele preparaat gevonden en 34 in het concentraat. Dit geval komt niet in aanmerking voor berekening der concentratiegraad. In geval 2 betekent $\frac{1}{3}$ 1 cyste per 3 gezichtsvelden, enz. De waarden voor het concentrerend vermogen werden altijd tot hele getallen afgerond. Bij 3 en 4 zijn de tellingen in het eosinepreparaat met het grote droge systeem, in het concentraat met de olieïmmersie verricht.

Doordat elk faecesmonster op meer dan een manier bewerkt werd konden de uitkomsten der proeven elkaar tot op zekere hoogte controleren, waardoor het bezwaar dat alle waarnemingen door een en dezelfde persoon werden verricht grotendeels werd opgeheven.

De eerste serie waarnemingen heeft betrekking op 150 faecesmonsters. Hierbij bleek dat de methode van Otto zeer povere resultaten opleverde. De uitkomsten zijn weergegeven in tabel I. Met eosine leverde deze reeks 119 protozoën infecties op en met Otto slechts 117 (zie cijferkolommen 1 en 2). Als we de uitkomsten splitsen naar de resultaten verkregen bij de afzonderlijke parasitaire

soorten dan blijkt *O t t o* het er bij de grootste cysten het beste te hebben afgebracht en vooral bij de kleine cysten een échec te hebben geleden. Bij de coli- en hisolyticacysten 56 vondsten met *O t t o*,

TABEL I
ONDERZOEK VAN 150 FAECESMONSTERS

	eosine	OTTO	eosine + OTTO -	eosine - OTTO +
Ent. coli	44	46	2	4
Ent. histolytica	9	10	—	1
Ent. tenuis	4	3	2	1
Joodcysten	12	12	1	1
End. nana	27	25	7	5
Lambliä	12	12	—	—
Chilomastix	11	9	2	—
Totaal	119	117	14	12

tegen 53 met eosine, bij de jood- en Lamblia-cysten is het aantal gelijk, terwijl bij de tenuis-, nana- en chilomastix-cysten met *O t t o* er slechts 37 gevonden werden tegen 42 met eosine. Nu zijn colicysten meestal $> 15 \mu$, histolyticacysten variëren gemiddeld tussen 11 en 15μ , joodcysten en Lamblia-cysten meten ongeveer tussen 8 en 12μ , de cysten van Ent. tenuis, End. nana en Chilomastix zijn bijna altijd $< 10 \mu$, meestal tussen 6 en 8μ . In een tabelletje uitgedrukt krijgen we dan:

	eosine	O t t o
cysten $> 11 \mu$	53	56
cysten $8-12 \mu$	24	24
cysten $6-8 \mu$	42	37
totaal	119	117

Het is mogelijk dat de kleinere cysten met hun relatief grotere oppervlakte bij het opstijgen meer hinder ondervinden van de fijne detritusdeeltjes die in de gemaakte suspensie zweven. Het is slechts een suggestie en ik geef deze mening graag voor een betere. Het is

zeker niet daaraan gelegen, dat de kleine cysten een hoger soortelijk gewicht zouden hebben, want bij de methode van *F a u s t* doen de kleine cysten het juist beter en zou men tot het tegengestelde moeten concluderen.

Tabel I laat in de kolommen 3 en 4 zien, dat in 14 gevallen het eosinepreparaat positief was en *O t t o* negatief, doch dat slechts 11 maal het omgekeerde voorkwam. Het laatste is niet verwonderlijk, van een concentratiemethode verwacht men uit de aard der zaak winst. Het eerste is echter teleurstellend, niet minder dan 14 maal op 119 gevallen liet de concentratiemethode in de steek, waar het gewone rechtstreekse preparaatjes succes had.

Nu moet toegegeven worden, dat kolom 1 een geflatteerd beeld geeft. Hierin zijn alle gevallen opgenomen, waarbij in het eosinepreparaat cysten werden gevonden, ook diegene waarin de diagnose niet met zekerheid doch slechts met een zekere mate van waarschijnlijkheid kon worden gesteld. Deze laatste categorie wordt gevormd door ontlastingmonsters met weinig cysten. In het eosinepreparaat worden dan maar enkele of slechts één cyste gevonden, terwijl men in het jodiumpreparaat, waarin het nu eenmaal door gebrek aan contrast veel moeilijker zoeken is, vaak niets vindt. En zoals eerder reeds betoogd is veelal het jodiumpreparaat onontbeerlijk voor de zekere diagnose. Wel is door de vondst in eosine reeds de zekerheid verkregen, dat er cysten aanwezig zijn en in jodium zullen ze ook zeker te vinden zijn als men maar goed en lang genoeg zoekt. Dit kan echter zeer tegenvallen en meerdere preparaten kunnen nodig zijn voor het beoogde doel is bereikt. Men doet in zo'n geval verstandiger het onderzoek op volgende dagen te herhalen, totdat er meer cysten in de ontlasting zitten. Als ik de niet zekere gevallen nu niet meereken, wat dus een reëler beeld voor de praktijk geeft, dan worden de uitkomsten als in tabel III aangegeven. De verhoudingen veranderen nu aanmerkelijk ten gunste van de methode van *O t t o*, maar de resultaten zijn nog niet om te roemen.

Dat er van de methode *O t t o* niet zo heel veel valt te verwachten blijkt ook uit het concentrerend vermogen, dus hoeveel maal meer cysten er per gezichtsveld worden gevonden dan in een eosinepreparaat. De laatste kolom van tabel III geeft de gemiddelden daarvan aan (afgerond tot hele getallen) en deze blijken te schommelen tussen 1 en 2, waarbij 1 dus betekent, dat er van concentreren in het geheel

geen sprake is daar het aantal cysten in het preparaat van Otto dan ongeveer even groot is als in het eosinepreparaat. Twee keer verkreeg ik een concentraat van meer dan 10 maal, maar daartegenover stonden gevallen, waarbij het woord verdunnen beter op zijn plaats was.

TABEL III
ONDERZOEK VAN 150 FAECESMONSTERS

In kolom 1, aangegeven met eosine jodium, alleen de zekeere gevallen opgenomen evenals in kolom 3

	eosine jodium	OTTO	eosine + OTTO -	eosine - OTTO +	concentraat
Ent. coli	39	46	1	8	2 x
Ent. histolytica	9	10	—	1	2 x
Ent. tenuis	3	3	1	1	1 x
Joodcysten	12	12	1	1	1 x
End. nana	24	25	4	5	1 x
Lamblia	12	12	—	—	1 x
Chilomastix	10	9	1	—	2 x
Totaal	109	117	8	16	

Eén voordeel van de preparaten volgens Otto gemaakt, het zijn immers jodium preparaten, is dat de cysten er gemakkelijk in te vinden zijn dan in het gewone rechtstreekse jodium preparaat. Het contrast is niet sterker, maar er zit minder detritus in het preparaat, de cysten liggen veel vrijer. Bovendien komt de tekening der cysten wat scherper uit, blijkbaar veroorzaakt door de combinatie zink-sulfaat—joodjoodkali. Daartegenover staat weer het nadeel van de plasmolyse door het langdurig verblijf in de sterke ZnSO_4 oplossing. Vooral nanacysten en ook histolyticacysten hebben daar erg onder te lijden. Hierdoor kan de herkenning soms zelfs onmogelijk gemaakt worden.

Bovenstaande waarnemingen komen alle op het zelfde neer: bij de methode van Otto kan nauwelijks van een concentratiemethode gesproken worden, als zodanig heeft hij maar zeer weinig waarde. Dit komt ook nog eens tot uiting als men hem vergelijkt met de 3

andere toegepaste concentratiemethoden (zie tabel IV) waarbij blijkt dat wel degelijk heel wat betere resultaten zijn te verkrijgen.

Daar ik nu reeds overtuigd was, dat de methode van Otto geen praktische bruikbaarheid zou opleveren, voelde ik me gerechtigd bij het verdere onderzoek de methode van Otto achterwege te laten.

Er volgde nu een tweede serie van 150 faecesmonsters geheel gelijksoortig aan de vorige 150, zodat de uitkomsten samengevoegd konden worden. In tabel V zijn deze 300 gevallen verwerkt. In de

TABEL IV
ONDERZOEK VAN 150 FAECESMONSTERS

	eosine	BAYER	FAUST	vereenv. FAUST	OTTO
Ent. coli	44	50	52	52	46
Ent. histolytica	9	11	11	11	10
Ent. tenuis	4	6	6	6	3
Joodcysten	12	7	13	14	12
End. nana	27	37	36	36	25
Lambliä	12	12	14	12	12
Chilomastix	11	15	15	14	9
Totaal	119	138	147	145	117

TABEL V
ONDERZOEK VAN 300 FAECESMONSTERS

	eosine	BAYER	FAUST	vereenv. FAUST	aantal infecties	eosine jodium
Ent. coli	84	96	99	98	104	73
Ent. histolytica	14	16	16	16	16	13
Ent. tenuis	10	13	12	12	13	8
Joodcysten	21	14	22	23	24	20
End. nana	58	75	75	74	79	52
Lambliä	22	23	24	22	24	22
Chilomastix	25	34	33	32	36	23
Totaal	234	271	281	277	296	211

vijfde kolom cijfers staat telkens het totaal aantal infecties aangegeven, dat door de hele reeks bewerkingen tot uiting is gekomen. Uit de 2de, 3de en 4de kolom blijkt nu dat geen enkele concentratiemethode alle ontdekte infecties heeft opgespoord. Alleen als we de verschillende soorten infecties afzonderlijk bekijken geven de drie concentratiemethoden elk alle 16 histolytica infecties aan, de methode van *Baye r* geeft alle 13 tennis infecties en de methode van *Fa u s t* alle 24 *Lamb lia* infecties. Over het geheel genomen wordt het grootste gedeelte der infecties door alle 3 de methoden aangetoond, maar in die gevallen waarbij slechts heel weinig cysten in de ontlasting aanwezig zijn (wat, zoals reeds eerder werd gememoreerd, in het geheel niet impliceert dat de infectie licht is) heeft nu eens de ene methode succes dan weer de andere. Behalve voor de joodcysten, waar de *Baye r* in bijna de helft der gevallen faalt en zelfs voor het rechtstreekse onderzoek onderdoet, ontlopen de resultaten der 3 concentratiemethoden elkaar niet veel.

Het eosine onderzoek leverde vrij veel positieve gevallen op, maar ook hier geeft de eerste kolom een geflatteerd beeld. Hierin staan weer alle gevallen aangegeven, waarbij in eosine cysten werden gevonden inclusief diegene waarop de diagnose niet met zekerheid doch slechts met een zekere mate van waarschijnlijkheid kon worden gesteld. De laatste kolom geeft het beeld, dat meer de werkelijkheid in de praktijk weergeeft (vergelijk ook tabellen I en III).

Tabel VI geeft hetzelfde weer als tabel V, maar hierin zijn de aantallen positieve vondsten uitgedrukt in percentages van het totaal aantal gevonden infecties. Van de cysten van *Ent. tennis*, *End. nana* en *Chilomastix* werden er slechts 60 à 70 % door het rechtstreekse onderzoek gediagnosticeerd. Deze percentages zijn duidelijk lager dan bij de grotere cystensoorten en dit schrijf ik hoofdzakelijk daaraan toe, dat de kleine cysten gemakkelijker over het hoofd worden gezien en meerdere malen een eosinepreparaat foutievelijk negatief zal worden bevonden. De *Lamb lia* cysten steken met hun 92 % wel zeer gunstig af tegenover de rest. Ten eerste is het cijfer voor deze soort in de 1ste en in de 6de kolom gelijk omdat deze cysten ook in de eosine altijd goed zijn te herkennen. Ten tweede is het aantal cysten, indien aanwezig, meestal zeer groot, zodat ze bij het rechtstreekse onderzoek al gemakkelijk zijn te vinden. Ook bij joodcysten en histolyticacysten is het aantal vaak groot, maar veelvuldiger dan bij *Lamb lia* kan het

aantal ook gering zijn. Nanacysten kunnen in overweldigende hoeveelheden aanwezig zijn, maar daarentegen zeer vaak slechts in gering aantal. Ook bij *Chilomastix* is het aantal cysten dikwijls klein. Colicysten komen zelden in excessief grote getale voor, terwijl tenuiscysten als regel in betrekkelijk gering aantal aanwezig zijn ¹⁾). De grootte der cysten en het aantal zijn de twee belangrijkste factoren

TABEL VI
ONDERZOEK VAN 300 FAECESMONSTERS
UITGEDRUKT IN PERCENTAGES

	eosine	BAYER	FAUST	vereenv. FAUST	aantal infecties	eosine jodium
Ent. coli	81	92	95	94	100	70
Ent. histolytica	88	100	100	100	100	81
Ent. tenuis	77	100	92	92	100	62
Joodcysten	88	58	92	96	100	83
End. nana	74	95	95	94	100	66
Lamblia	92	96	100	92	100	92
Chilomastix	69	94	92	89	100	64
Totaal	79	92	95	94	100	74

die het percentage positieve vondsten bij het rechtstreekse onderzoek bepalen en dit komt in kolom 6 vrij aardig tot uitdrukking al moet men natuurlijk de uitkomsten niet te absoluut nemen, daar uit statistisch oogpunt bekeken het aantal waarnemingen zeer klein is.

In plaats van telkens het totale aantal gevonden infecties als basis te nemen kunnen we ook de vondsten bij het rechtstreekse onderzoek gedaan als uitgangspunt nemen en berekenen hoeveel procent winst de verschillende concentratiemethoden opleverden. Dit is weergegeven in tabel VII. Hieruit blijkt dat door te concentreren het aantal positieve bevindingen ongeveer met $\frac{1}{3}$ wordt vermeerderd, een dus vrij belangrijke winst. Een ongunstige invloed op het totale winstcijfer bij de methode van B a y e r heeft de verliespost die hier bij de jood-

¹⁾ Gelijksortige waarnemingen wat betreft het aantal cysten der 3 Entamoeben-soorten in de ontlasting, deed S n i j d e r s bij het onderzoek van de plasmolyse (1921).

cysten werd geboekt. Voor deze soort cysten is de werkwijze van B a y e r volkomen ongeschikt; ze worden namelijk bijna altijd en vaak tot onherkenbaar toe misvormd. In die gevallen waarbij de joodcysten goed of althans herkenbaar bleven, bleek de concentratie overigens heel behoorlijk. Als de joodcysten uitgeschakeld worden, komt het

TABEL VII
UITKOMSTEN VAN 300 MONSTERS
Percentages winst der verschillende methoden
t.o.v. het rechtstreekse onderzoek

	BAYER	FAUST	vereenv. FAUST
Ent. coli	31	36	34
Ent. histolytica	23	23	23
Ent. tenuis	63	50	50
Joodcysten	—	10	15
End. nana	44	44	42
Lamblia	5	9	0
Chilomastix	48	43	39
Totaal	28	33	32
Totaal met uitschakeling der joodcysten	(35)	(36)	(33)

totale winstcijfer voor de methode van B a y e r op 35 % in plaats van 28, voor die volgens F a u s t en de vereenvoudigde F a u s t respectievelijk op 36 en 33 %. De methoden doen over het geheel genomen dus weinig voor elkaar onder.

Tot slot werd nog berekend het gemiddelde concentrerend vermogen der 3 methoden (afgerond tot hele getallen). De resultaten staan in tabel VIII. Zoals reeds eerder werd betoogd komen voor de bepaling van het concentrerend effect niet alle gevallen in aanmerking maar alleen die waarbij een redelijk aantal cysten aanwezig waren. Het aantal waarnemingen dat hierdoor gebruikt kon worden staat aangegeven in de laatste kolom. Bij de tenuiscysten was dit aantal (3) te klein om een enigszins betrouwbaar gemiddelde te geven. Dit is een gevolg van het boven reeds genoemde feit, dat de hoeveelheid

tenuiscysten in de ontlasting over het algemeen vrij gering is. Bij toepassing volgens *Bayer* is voor joodcysten ook geen gemiddelde bepaald omdat dit toch geen zin heeft, gezien de zeer wisselvallige uitkomsten. In de tabel valt direct op de grote variatie der getallen en wel het sterkste bij de methode van *Bayer*. Bij laatstgenoemde zijn de resultaten met kleine cysten veel beter dan met grote cysten. Alleen

TABEL VIII
ONDERZOEK VAN 300 MONSTERS

Gemiddelden van het concentrerend vermogen der verschillende methoden

	BAYER	FAUST	vereenv. FAUST	aantal gevallen
Ent. coli	17 x	36 x	31 x	51
Ent. histolytica	33 x	34 x	28 x	11
Ent. tenuis	—	—	—	3
Joodcysten	—	22 x	19 x	15
End. nana	47 x	39 x	27 x	40
Lamblia	25 x	20 x	18 x	21
Chilomastix	39 x	33 x	25 x	16

de *Lamblia* cysten vallen uit de toon, ondanks dat ze gemiddeld kleiner zijn dan histolyticacysten concentreren ze veel slechter. Bij de methode van *Faust* zijn het de joodcysten en *Lamblia*'s die duidelijk minder goed concentreren dan de andere soorten, terwijl voor deze laatste de uitkomsten niet ver uit elkaar lopen. Ook bij de vereenvoudigde methode van *Faust* zijn het weer joodcysten en *Lamblia*'s met de slechtste resultaten. Voor de overige soorten krijgt men hier juist de indruk, dat de kleinere cysten het wat minder goed doen evenals dat het geval was bij de methode van *Otto*. Verder zijn de resultaten over de hele linie iets minder fraai dan die verkregen met de methode van *Faust* en dan, behalve voor coli- en joodcysten, die verkregen met de methode van *Bayer*. Dezelfde tendentie komt tot uitdrukking in de tabellen V, VI en VII. Welke methode verdient nu de voorkeur?

Als extra glaswerk vergeleken bij de andere 2 methoden is er bij die volgens *Bayer* een scheidtrechter nodig. Ten tweede moet er

3 minuten flink geschud worden, wat een zeer onaangename bezigheid is. Dit zijn beslist twee nadelen tegenover de 2 flottatiemethoden. Verder vereist de methode van B a y e r 20 à 25 minuten tijd en geeft voor colicysten matig goede en voor joodcysten slechte resultaten, hoewel dit laatste voor de kliniek van geen belang is, daar *Ent. coli* noch *End. williamsi* pathogeen zijn. Ook de methode van F a u s t vergt vrij veel tijd, doordat vele malen achter elkaar gesuspenderd en gecentrifugeerd moet worden, minstens zoveel tijd als de methode van B a y e r.

De vereenvoudigde methode van F a u s t heeft 2 voordelen: ten eerste zijn de te verrichten handelingen weinig en eenvoudig en ten tweede kan men in 10 minuten klaar zijn, 5 minuten voorbereiding en 5 minuten om het preparaat te doorzoeken. De tijd om een preparaatje door te zoeken is bij alle 3 methoden zo kort omdat de beelden veel minder detritus bevatten dan de rechtstreekse preparaatjes, waardoor de cysten beter opvallen. De methode van B a y e r heeft daarbij nog het voordeel dat ook de kernen van *End. nanacysten* goed zijn te herkennen. Bij de zinksulfaat-flottatiemethoden komen de structuren der cysten scherper uit dan in het rechtstreekse jodiumpreparaat, terwijl de tinten iets feller genuanceerd zijn. Zo is bijvoorbeeld de *Chilomastixcyste* vaak aan zijn bronzen kleur al te onderscheiden van de licht geelbruine *nanacyste* en contrasteert het bruin van de glycogeenvacuole der joodcyste nog duidelijk met het gele protoplasma als in het rechtstreekse jodiumpreparaat nauwelijks meer verschil is te zien. Wel heeft het zinksulfaat het nadeel van de plasmolyse, maar als men het concentraat niet eerst een tijd laat staan voor het na te kijken is die niet hinderlijk, alleen bij tenuiscysten kan de herkenning daardoor wel eens wat lastig zijn.

Mijns inziens verdient de vereenvoudigde methode van F a u s t verreweg de voorkeur door de eenvoud der handelingen en de korte tijdsduur, terwijl de resultaten maar weinig minder zijn dan van de andere methoden.

Reeds in de vorige eeuw, toen het protozoënonderzoek nog in zijn kinderschoenen stond, werd dikwijls het laxeren van de patiënt aanbevolen om meer parasieten in de faeces te doen verschijnen en iedere parasitoloog zal zeker wel eens een laxans voor diagnostische

doeleinden hebben toegepast. Verschillende gezaghebbende parasitologen echter propageren het laxeren van de patiënt, teneinde dunne snel geloosde ontlasting ter onderzoek te verkrijgen, als routinemethode vanwege de goede resultaten die deze methode oplevert (Andrews, 1934; Magath, 1934; Svensson en Linders, 1934). Er wordt aangegeven dat drie kwart of meer der infecties op deze wijze bij het eerste onderzoek worden opgespoord, terwijl het eenmalige rechtstreekse onderzoek van goed gevormde ontlasting slechts een derde tot de helft der infecties aan het licht brengt. Aangezien mij door mijn leermeester Brug was ingeprent dat *Ent. coli* amoeben maar zelden met zekerheid van de minutavormen van *Ent. histolytica* zijn te onderscheiden stond ik nog al sceptisch tegenover de purgeermethode, daar het over het algemeen juist om de differentiële diagnosen tussen deze twee vormen zal gaan zoals reeds eerder is betoogd. Toch leek het nuttig in aansluiting op het toetsen der verschillende concentratiemethoden ook de laxeermethode bij het onderzoek te betrekken.

Als eerste doel stelde ik mij de verhouding vast te stellen tussen de vondsten verkregen op de gewone wijze en die verkregen na toediening van een sterk laxans. In verband met het vorige onderzoek was dan tevens een vergelijking met de concentratiemethoden mogelijk. Ten tweede was het gewenst een inzicht te verkrijgen in de verhouding van het aantal op de besproken manieren opgespoorde infecties tot het aantal werkelijk aanwezige infecties. Nu is dit laatste redelijkerwijs niet nauwkeurig aan te geven, daar een infectie eens bijvoorbeeld pas na 18 onderzoeken werd ontdekt.

Zoals reeds eerder gezegd mag men echter na een 6 malig onderzoek aannemen dat dan bij benadering alle infecties aan het daglicht zijn gebracht. Nu bleek het zeer bezwaarlijk om binnen een niet al te lange tijd een behoorlijk aantal personen te vinden die èn gelaxeerd èn 6 maal onderzocht konden worden. Uit praktische overwegingen moest ik daarom het aantal onderzoeken tot 4 per persoon beperken. Nu geldt het 6 malige onderzoek voor de rechtstreekse methode en ik was van plan elke keer ook te concentreren. Zodoende hoopte ik met 4 maal een heel eind te komen.

De gang van zaken was als volgt. De 1ste dag werd normaal gevormde ontlasting nagekeken, de 2de dag werd de patiënt gepurgeerd, waarna de diarrhoeische ontlasting werd onderzocht en vervolgens

werd telkens met 1 of 2 dagen tussenruimte nog 3 maal faeces van dezelfde patiënt nagekeken.

Van elk faecesmonster werd gemaakt: een eosinepreparaat, zo nodig een jodiumpreparaat, een concentraat en 2 gekleurde preparaten.

De kleuring werd weer volgens Delafield gedaan, voor het concentreren gebruikte ik de vereenvoudigde methode van Faust. Voor de diagnose der vegetatieve vormen van *Ent. williamsi*, *Ent. nana*, *Ent. tenuis* en *Dient. fragilis* werd alleen afgegaan op de gekleurde preparaten, aangezien deze in het rechtstreekse preparaat dikwijls niet met zekerheid zijn te herkennen. Van de gevonden Entamoeben $> 10 \mu$ werd in het midden gelaten of ze tot *Ent. coli* dan wel tot *Ent. histolytica* moesten worden gerekend, tenzij de betreffende cysten eveneens aanwezig waren. Wel is het vaak mogelijk een vermoedelijke diagnose te stellen, afgaande op beweging, pseudopodiënvorming en aspect van de kern, zekerheid geeft alleen de aanwezigheid van opgenomen rode bloedlichaampjes.

Het onderzoek omvatte 400 patiënten, uit statistisch oogpunt bekeken slechts een klein aantal; daar elke patiënt 5 faecesmonsters voor onderzoek leverde betekent het voor de onderzoeker een respectabel aantal. Tabel IX geeft hiervan de resultaten. De eerste kolom geeft de vondsten gedaan met het rechtstreekse onderzoek en wel alleen die waarbij de diagnose met zekerheid kon worden gesteld. De tweede kolom geeft de uitkomsten met behulp van de concentratiemethode verkregen. Daarna volgen op dezelfde wijze de nieuwe infecties aan de dag gebracht bij het 2de, 3de en 4de onderzoek van normale faeces van dezelfde persoon. Vervolgens de gezamenlijke resultaten aldus verkregen. Dan volgt het resultaat van het onderzoek na toediening van het laxans en tot slot in de laatste kolom het totale aantal infecties dat is opgespoord.

Na laxeren werden 15 maal Entamoeben gevonden, waarvan de benoeming in het midden moest blijven. Bij deze personen werd door de andere onderzoekingen 12 maal *Ent. coli* en 1 maal *Ent. hist.* gediagnostiseerd, bij de 2 overgeblevenen werden geen cysten gevonden. 24 maal werden naast de amoeben gelijktijdig colicysten gevonden, bijgevolg werden deze amoeben als coliamoeben beschouwd. Bij 2 van deze 24 personen werden echter bij het verdere onderzoek ook histolyticacysten gevonden, zodat het zeer goed moge-

lijk is, dat de amoeben van deze 2 patiënten zowel uit coli's als uit minuta's bestonden. Het aantal amoeben per preparaat was bij Ent. coli over het algemeen gering, bij de paar gevallen van Ent. histolytica waren het er wat meer. Waarschijnlijk is dit daaraan te wijten, dat de vegetatieve vormen van Ent. coli bij kamertemperatuur veel eerder afsterven dan die van Ent. histolytica ¹⁾).

TABEL IX
RESULTATEN SERIE-ONDERZOEK VAN 100 PERSONEN

	1 ste onderzoek		winst 2de onderzoek		winst 3de onderzoek		winst 4de onderzoek		laxans eosine DELA- FIELD	totale aantal infecties
	eos. jod.	conc.	eos. jod.	conc.	eos. jod.	conc.	eos. jod.	conc.		
<i>Ongedifferentieerde entamoeben</i>									15	} 59
Ent. coli	26	36	8	7	9	6	4	2	24	
Ent. histolytica	2	4	1	1	1	1	1	—	2	
Ent. tenuis	3	6	3	1	—	—	—	—	7	7
End. williamsi	2	2	—	—	1	1	—	—	2	3
End. nana	16	24	6	6	6	4	3	2	32	37
Lamblia	2	3	1	—	—	—	1	1	2	4
Chilomastix	6	10	4	3	2	1	—	1	15	16
Dient. fragilis	1		—		1		—		10	10
Totaal	58	85	23	18	20	13	9	6	109	136

Het aantal End. williamsiamoeben was beide keren zeer klein. Deze amoeben zijn bekend om hun spoedige afsterven na de defaecatie. Van Dient. fragilis was het aantal over het algemeen groot, evenals van Chilomastix mesnili. Bij Ent. tenuis en End. nana, was het aantal amoeben dat in de verschillende gevallen werd gevonden wisselend. Van Lamblia intestinalis heb ik bij deze serie waarnemingen geen vegetatieve vormen gezien, de 2 positieve gevallen aangegeven na

¹⁾ Als men een gemengde cultuur heeft van Ent. coli en Ent. hist. en men wil de eerste elimineren dan maakt men van deze eigenschap gebruik door de kweek een halve dag in de ijskast te zetten of een dag bij kamertemperatuur te laten staan; Ent. histolytica overleeft dit experiment, Ent. coli niet (Dobell, 1933).

het purgeren waren vondsten van alleen maar cysten. *Lambli*a's moeten op grote afstand, namelijk uit het duodenum komen en sneven spoedig zodra ze hun natuurlijke milieu verlaten. Alleen als de reis van het duodenum naar de buitenwereld kort duurt zullen zij nog levend in de faeces worden aangetroffen.

Trichomonas hominis werd bij deze 100 personen niet gevonden.

TABEL X
RESULTATEN SERIE-ONDERZOEK VAN 100 PERSONEN

	aantal infecties na 1 x		aantal infecties na 2 x		aantal infecties na 3 x		aantal infecties na 4 x		laxans eosine DELA-FIELD	totale aantal infecties
	eos. jod.	conc.	eos. jod.	conc.	eos. jod.	conc.	eos. jod.	conc.		
<i>Ongedifferentieerde entamoeben</i>									15 (2)	2
<i>Ent. coli</i>	26	36	34	43	43	49	47	51	24 (36)	51
<i>Ent. histolytica</i> . .	2	4	3	5	4	6	5	6	2 (3)	6
<i>Ent. tenuis</i>	3	6	6	7	6	7	6	7	7	7
<i>End. williamsi</i> . . .	2	2	2	2	3	3	3	3	2	3
<i>End. nana</i>	16	24	22	30	28	34	31	36	32	37
<i>Lambli</i> a	2	3	3	3	3	3	4	4	2	4
<i>Chilomastix</i> . . .	6	10	10	13	12	14	12	15	15	16
Totaal	57	85	80	103	99	116	108	122	84 (99)	126

In tabel X zijn de uitkomsten op wat andere wijze genoteerd. Aangegeven is hier, hoeveel infecties na elk onderzoek in het geheel waren opgespoord. Tabel XI geeft hetzelfde weer uitgedrukt in percentages van het totale aantal gevonden infecties. De 15 ongedifferentieerde amoeben in de op een na laatste kolom zijn niet meegerekend. Als deze 15 vondsten worden gesplitst in de soorten die ze later bleken te vertegenwoordigen, *Ent. coli* 12, *Ent. hist.* 1 en nog onbekend 2, en ze worden als zodanig meegeteld, dan worden de resultaten als aangegeven tussen haakjes in de tabellen X en XI. Als voor *Ent. histolytica* ook nog meegerekend worden die 2 gevallen die als *Ent. coli* zijn aangegeven maar welke later bleken een menginfectie te zijn en waar onder de amoeben vermoedelijk ook *Ent. histolytica*'s

waren, dan wordt het resultaat gevonden na laxans voor deze soort 5 en het percentage 83. Deze aparte berekeningen voor *Ent. coli* en *Ent. histolytica* heb ik er bij gemaakt daar vele onderzoekers de rubriek ongedifferentieerde Entamoeben veel kleiner of in het geheel niet zouden hebben, omdat zij de wijze van beweging en van pseudopodiënvorming en het aspect van de kern wel voldoende achten om

TABEL XI
RESULTATEN SERIE-ONDERZOEK VAN 100 PERSONEN
UITGEDRUKT IN PERCENTAGES

	aantal infecties na 1 x		aantal infecties na 2 x		aantal infecties na 3 x		aantal infecties na 4 x		laxans eosine DELA-FIELD	totaal aantal infecties
	eos. jod.	conc.	eos. jod.	conc.	eos. jod.	conc.	eos. jod.	conc.		
<i>Ent. coli</i>	51	71	67	84	84	96	92	100	47 (71)	100
<i>Ent. histolytica</i> . . .	33	67	50	83	67	100	83	100	33 (50)	100
<i>Ent. tenuis</i>	43	86	86	100	86	100	86	100	100	100
<i>End. williamsi</i>	67	67	67	67	100	100	100	100	67	100
<i>End. nana</i>	43	65	59	81	76	92	84	97	86	100
<i>Lamblia</i>	50	75	75	75	75	75	100	100	50	100
<i>Chilomastix</i>	38	62	62	81	75	88	75	94	94	100
Totaal	45	67	63	81	78	92	86	97	67 (78)	100

een differentiële diagnose te stellen, terwijl ik in zo'n geval niet verder durf gaan dan het vermoeden uit te spreken welke soort in het geding is. Dat neemt niet weg dat in de onderhavige 15 gevallen de zekerheid bestaat dat er of van een *Ent. coli* of van een *Ent. histolytica*infectie sprake is, waarbij ook nog rekening moet worden gehouden met de mogelijkheid van een menginfectie. Het is dus een aanwijzing het onderzoek zo vaak te herhalen totdat er cysten gevonden worden.

De ontlasting verkregen na purgeren werd ook nog geconcentreerd op cysten, maar deze vondsten zijn niet in de tabellen opgenomen om het materiaal niet ongelijksoortig te doen worden. Hierbij werden 80 maal cysten gevonden, dat is iets minder dan bij het 1ste onderzoek. De vondsten waren over de hele linie ongeveer gelijk aan die gedaan bij het 1ste onderzoek, het aantal cysten per preparaat was

ook van dezelfde grootte orde. Voor het onderzoek naar cysten is het al of niet laxeren blijkbaar van geen belang, alleen vindt men na een laxans in verhouding meer jonge vormen.

Dientamoeba fragilis en *Trichomonas hominis* vormen geen cysten, deze protozoën zullen we voornamelijk bij diarrhoe of na een laxans tegenkomen. Overigens behoeft men de vegetatieve stadia der protozoën niet uitsluitend in dunne ontlasting te verwachten; zoodra de faeces wat minder vast van consistentie is is het vinden van amoeben of flagellaten niet zo'n grote zeldzaamheid. Uit tabel IX blijkt bijvoorbeeld, dat bij het gewone onderzoek 2 infecties van *Dient. fragilis* konden worden vastgesteld.

Uit het onderzoek is gebleken, dat met 4 maal nakijken zeker nog niet alle infecties zijn opgespoord. Na laxeren zijn 2 maal *Entamoeben*, 1 maal *End. nana* en 1 maal *Chilomastix* gevonden, die bij het viermalige onderzoek niet werden aangetoond. (*Trichomonas* en *Dient. fragilis*, die geen cysten vormen, hierbij buiten beschouwing gelaten).

Reken ik het boven reeds genoemde cystenonderzoek gedaan na het purgeren mee als 5de onderzoek, dan levert dat slechts een winst op van 1 infectie, namelijk van *End. nana* (waarbij ook vegetatieve vormen waren gevonden). Gezien de dalende lijn in de aanwinsten gedaan bij het 2de, 3de en 4de onderzoek, respectievelijk 18, 13 en 6 (zie onderste horizontale rij van tabel IX), waarna dan het 5de onderzoek met 1 zou komen, doet dit veronderstellen, dat meer onderzoeken niet veel meer zouden opleveren. Daarom meen ik te mogen aannemen, dat met dit 4 malige onderzoek plus het onderzoek na laxans bijna alle aanwezige infecties zijn opgespoord.

Nemen we voor het gemak aan, dat hiermede alle infecties zijn aangetoond, dan leert ons tabel XI dat:

1. een eenmalig rechtstreeks onderzoek $\pm 45\%$ der infecties aantoonst.
2. een eenmalig onderzoek met een concentratiemethode $\pm 67\%$.
3. een 4 malig rechtstreeks onderzoek $\pm 86\%$.
4. een 4 malig onderzoek met een concentratiemethode $\pm 97\%$.
5. een onderzoek met behulp van een purgeermiddel $\pm 78\%$, waarvan echter 11 % zondere zekere diagnose.

Bij *Trichomonas* en *Dient. fragilis* is hier geen oordeel te vormen over de werkelijk voorkomende frequentie. De eerste komt in Neder-

land zeer weinig voor, Bijlsma (1919), Krediet (1921) en Ter Poorten (1928) vonden deze flagellaat geen enkele maal, Brug (1939) vond hem met behulp van laxeren en kweken 1 keer op 95 patiënten. Bij ditzelfde onderzoek vond Brug met behulp van laxeren in 12 % der gevallen een Dient. fragilis-infectie, na laxeren plus kweken verdrievoudigde het aantal vondsten van deze amoebe en bleek de infectieindex niet minder dan 36 %. Aannemende dat een dergelijke verhouding ook voor mijn onderzoek geldt betekent dit dat mijn 10 Dientamoeba infecties slechts $\frac{1}{3}$ van het werkelijke aantal infecties zijn.

Toen de oorlog met Japan was beëindigd, kwam er een stroom van repatriërenden uit Indië en hiervan verkreeg ik 78 faecesmonsters. Het was mij hierbij onder andere te doen om de Ent. histolytica-infecties, waarbij ik de verschillende concentratiemethoden nog eens kon toepassen en vergelijken. Dit was als aanvulling bedoeld voor mijn onderzoek naar de waarde van het concentreren omdat het Amsterdamse materiaal zo weinig histolytica infecties had opgeleverd.

Deze 78 faecesmonsters, op dezelfde wijze bewerkt als de reeks van 300, leverde het volgende op:

Ent. coli	22	Joodcysten	7	Lamblia	7
Ent. histolytica	19	End. nana	8	Chilomastix	6
Ent. tenuis	3				

De gemiddelde uitkomsten van het concentrerend vermogen zijn aangegeven in tabel XII.

TABEL XII
ONDERZOEK VAN 78 MONSTERS (VAN GEREPA TRIEERDEN)
Concentrerend vermogen:

	BAYER	FAUST	vereenv. FAUST	aantal gevallen
Ent. coli	15 x	39 x	32 x	12
Ent. histolytica	35 x	35 x	28 x	14
Ent. tenuis	—	—	—	1
Joodcysten	—	20 x	18 x	5
End. nana	44 x	41 x	29 x	10
Lamblia	30 x	33 x	23 x	3
Chilomastix	—	—	—	1

De resultaten van de vereenvoudigde methode van *F a u s t* bij het serieonderzoek van 100 gevallen gedaan, dus van 400 faeces-monsters, staan in tabel XIII. Ten slotte is een gemiddelde berekend

TABEL XIII
SERIEONDERZOEK VAN 100 PERSONEN (400 MONSTERS)

	vereenv. FAUST	aantal gevallen
Ent. coli	30 x	63
Ent. histolytica	29 x	7
Ent. tenuis	26 x	6
Joodcysten	18 x	6
End. nana	27 x	47
Lamblia	15 x	4
Chilomastix	23 x	16

van alle resultaten tesamen, dus voor de methoden van *Bayer* en *F a u s t* betrekking hebbende op 378 monsters, voor de vereenvoudigde methode van *F a u s t* afkomstig van 778 monsters (tabel XIV) (vergelijk tabel VIII).

TABEL XIV
RESULTAAT VAN ALLE ONDERZOCHE GEVALLEN
Concentrerend vermogen:

	378 monsters			878 monsters	
	BAYER	FAUST	aantal gevallen	vereenv. FAUST	aantal gevallen
Ent. coli	17 x	37 x	63	31 x	126
Ent. histolytica	34 x	35 x	25	28 x	32
Ent. tenuis	—	—	4	25 x	10
Joodcysten	—	22 x	20	19 x	26
End. nana	46 x	39 x	50	27 x	97
Lamblia	25 x	22 x	24	18 x	28
Chilomastix	39 x	33 x	17	24 x	33

De 78 ontlastingsmonsters van gerepatrieerden konden ook nog voor een ander doel dienen. De methode van *F a u s t* was tevens bedoeld voor het concentreren van wormeieren en voor het aantonen van *Strongyloides* (s. *Anguillula*) *stercoralis* larven. De gerepatrieerden

bleken veelvuldig geïnfecteerd te zijn met *Ascaris*, *Trichocephalus*, *Ancylostoma* en *Anguillula*, juist die soorten waarvoor Fausts methode werd aanbevolen. Voor de cysten werden op deze monsters Bayer, Faust en vereenvoudigde Faust toegepast, voor de wormeieren deed ik daarnaast nog de methode van Fülleborn (flottatie met keukenzoutoplossing), de methode van Hein (droog faecesuitstrijkje) en de methode van Brug (het opsporen van *Anguillular*larven). Verder werd naast het eosinepreparaat een veel dikker

TABEL XV
ONDERZOEK VAN 78 MONSTERS VAN CEREPATRIEERDEN

	H ₂ O	BAYER	FAUST	vereenv. FAUST	FÜLLE- BORN	HEIN	BRUG	totaal
<i>Ascaris</i> bevrucht . . .	10	3	10	10	10	10		10
<i>Ascaris</i> onbevrucht . .	3	—	1	1	—	3		3
<i>Trichocephalus</i> . . .	3	10	8	16	18	14		22
<i>Ancylostoma</i>	14	17	25	26	26	17		27
<i>Anguillula</i>	8	—	6	8	—	—	11	11
<i>Taenia</i>	2	—	—	—	1	2		2

waterpreparaat (faecessuspensie in druppel water) gemaakt voor de wormeieren. Het concentrerend vermogen voor de eieren werd bepaald ten opzichte van de vondsten in deze waterpreparaten.

Tabel XV geeft de resultaten van dit onderzoek. De methode van Bayer is er bij opgenomen, omdat die toch voor de cysten werd toegepast, niet omdat hij voor wormeieren geschikt zou zijn. De *Ascariseieren* zijn verdeeld in bevruchte en onbevruchte omdat deze geheel verschillende uitkomsten geven met de verschillende methoden. Deze eieren zijn gemakkelijk van elkaar te onderscheiden. De onbevruchte hebben een slankere vorm, een dunnere onregelmatiger schaal en de dooiermassa vult de geheele inhoud van het ei op.

De 10 opgespoorde gevallen met bevruchte *Ascariseieren* werden door alle methoden uitgezonderd die volgens Bayer opgespoord, terwijl de 3 gevallen met onbevruchte *Ascariseieren* alleen door het rechtstreekse preparaat en in het droge uitstrijkje alle werden aangetoond.

De infecties met *Trichocephalus dispar* waren alle zeer licht en hierbij hadden de concentratiemethoden groot succes. Slechts $\frac{1}{7}$

der gevonden infecties werd door het rechtstreekse onderzoek aangetoond, waar de keukenzoutmethode er 6 maal zoveel opspoorde.

Ook bij de mijnworminfecties, die over het algemeen licht waren, leverde het concentreren aanmerkelijke winst op.

Bij de *Anguillula*'s was de methode van *Brug* superieur, alle aangetoonde gevallen kwamen voor rekening van deze methode.

TABEL XVI
ONDERZOEK VAN 78 MONSTERS
Concentrerend vermogen:

	BAYER	FAUST	vereenv. FAUST	FÜLLE- BORN	HEIN	BRUG	aantal gevallen
<i>Ascaris</i> bevrucht . .	—	3 x	5 x	7 x	6 x		10
<i>Ascaris</i> onbevrucht . .	—	—	—	—	3 x		3
<i>Trichocephalus</i> . .	—	—	—	—	—		—
<i>Ancylostoma</i> . . .	5 x	7 x	13 x	24 x	—		12
<i>Anguillula</i>	—	—	—	—	—	25-100 x	7
<i>Taenia</i>	—	—	—	—	4 x		2

In tabel XVI is, voor zover mogelijk, het concentrerend vermogen aangegeven der verschillende methoden. Voor bevruchte *Ascaris*-eieren geeft, *Bayer* buiten beschouwing gelaten, *Faust* de minste, *Fülleborn* de beste resultaten. Voor de onbevruchte eieren, die een hoger soortelijk gewicht hebben, zijn de flottatiemethoden volkomen ongeschikt. Wel staat in tabel XIV voor elk der twee zinksulfaatmethoden 1 geval op hun credit, maar hierbij ging het om een enkel ei dat als het ware bij ongeluk was meegekomen. In het droge uitstrijkje worden relatief minder onbevruchte eieren gevonden dan bij de bevruchte het geval was. De eerste vallen hierbij ook veel minder in het oog en ik kreeg de indruk dat ze minder goed bestand zijn tegen uitdrogen waardoor een deel onherkenbaar wordt. Wat de bevruchte eieren betreft geeft het droge uitstrijkje verreweg de mooiste beelden.

Bij de *Trichocephalus*-eieren was het niet mogelijk een behoorlijke berekening voor het concentrerend vermogen te maken aangezien bij het rechtstreekse onderzoek de 3 positieve vondsten slechts 1 of 2 eieren opleverden. Uit tabel XV blijkt echter dat *Fülleborn* de beste *Faust* weer de minste resultaten geeft. Ook met

Bayer werden meer dan eens Trichocephaluseieren aangetoond.

Wat de mijnwormeieren betreft blijkt uit tabel XV duidelijk, dat bij de flottatiemethoden de keukenzoutoplossing het ook hiervoor het beste doet. Het droge uitstrijkje is voor dit soort weinig geschikt, de meeste eieren worden daarbij tot onherkenbaar toe misvormd. Het aantal herkenbare eieren is zeer wisselend, nu eens meer dan weer veel minder dan in het rechtstreekse preparaat. Kijkt men het preparaat na als het nog nauwelijks droog is dan heeft men de beste kansen op succes, maar de resultaten blijven onberekenbaar. De methode van Bayer geeft ook voor mijnwormeieren enige winst ten opzichte van het rechtstreekse onderzoek.

Anguillularlarven worden er door het zinksulfaat niet mooier op. Inderdaad worden een deel der infecties met de methode van Faust en de vereenvoudigde Faust opgespoord, maar de larven zijn slecht herkenbaar en vaak kon ik alleen maar vermoeden, dat iets wel een larve zou geweest zijn. Bovendien is het aantal vaak geringer dan in het rechtstreekse preparaat. De methode van Brug gaf prachtige resultaten. Zo'n preparaatje bevatte soms een wriemelende massa larven waarvan het aantal slechts te schatten was. Eén maal was het aantal zeker meer dan 100 keer zo groot als dat in het rechtstreekse preparaat.

Er waren 2 infecties met *Taenia saginata* bij deze reeks. De flottatiemethoden faalden hierbij; bij één ervan werd in het keukenzoutconcentraat 1 ei gevonden. terwijl het rechtstreekse preparaat er 8 bevatte. Het droge uitstrijkje was niet mooi, de eieren bevatten een grote luchtbel en waren nauwelijks herkenbaar. Wel was het aantal op deze wijze gevonden eieren groter dan bij de rechtstreekse methode, maar het is nog de vraag of ik, indien alleen het droge uitstrijkje 1 of 2 van zulke eieren opleverde, daar een diagnose op zou durven stellen. Bij deze patiënten maakte ik ook nog een knotspreparaat van de anusstreek (op dezelfde wijze als voor *Oxyuris*) doch deze waren negatief.

Summa summarum levert de methode van Fülleborn de beste resultaten bij *Ancylostoma*-, *Trichocephalus*- en bevruchte *Ascaris*-eieren, de methode van Hein wint het voor de onbevruchte *Ascaris*-eieren en de methode van Brug voor de Anguillularlarven. Voor de *Taenia*-eieren was het aantal infecties te klein om een beslissend oordeel te vellen.

HOOFDSTUK VI

RESULTATEN EN BESCHOUWING

We komen nu tot de vraag welke gang van zaken er bij voorkeur voor het routineonderzoek zal worden gevolgd.

Wat de concentratiemethoden betreft is al betoogd dat ik voor het protozoënonderzoek de voorkeur zou geven aan de vereenvoudigde flottatiemethode met zinksulfaat. Deze methode concentreert minder sterk dan de oorspronkelijke methode van *Faust* en wat betreft *Ent. histolytica*- en *Lambli*a cysten ook minder dan de methode van *Bayer*. Het concentrerend vermogen is echter nog heel behoorlijk, ongeveer 20—30 maal, en het aantal positieve vondsten is slechts weinig minder dan bij de andere twee methoden en daar komt het per slot van rekening op aan ¹⁾). De methode levert vergeleken bij het rechtstreekse onderzoek met eosine en jodium een winst op van ruim 30 %. Tegenover de methoden van *Bayer* en van *Faust* staat het belangrijke voordeel der tijdsbesparing. Deze laatste vereisen een 25 minuten werk, terwijl men met de vereenvoudigde *Faust* in 10 minuten klaar kan zijn, dat wil zeggen niet langer dan nodig is voor het maken en nazien van een rechtstreeks jodiumpraeparaat. Daarom durf ik zelfs zover te gaan, in die gevallen waarin het eosinepraeparaat weinig cysten oplevert, aan te bevelen het maken van een

¹⁾ *Faust* geeft geen gemiddelde waarde aan voor het concentrerend vermogen, maar zegt concentraties van wel 1000 maal te hebben bereikt. Zo ver heb ik het nooit kunnen brengen. Mijn maximum concentratie voor *Ent. histolytica* cysten was met *Faust* 300 maal, met de vereenvoudigde *Faust* 240 maal en met *Bayer* 200 maal. Daartegenover staan gevallen met slechts 4 of 5 maal. *Short* (1945) paste een modificatie van *Faust*'s methode toe en geeft daarvoor een concentrerend vermogen op van 20—40 maal, dat is dus van dezelfde grootte orde als bij mijn waarnemingen.

rechtstreeks jodiumpreparaat achterwege te laten en onmiddellijk over te gaan tot het concentreren volgens de vereenvoudigde zinksulfaat-methode. Indien namelijk in het eosinepreparaat slechts enkele cysten te zien zijn is het meestal moeilijk ze in het jodiumpreparaat terug te vinden, terwijl daarentegen het concentraat vele malen meer cysten zal bevatten die bovendien stuk voor stuk nog gemakkelijker zijn te vinden en te herkennen.

De gevonden *Lamblia* infecties werden bijna alle reeds in eosine aangetoond. Niet omdat de concentratiemethode hiervoor slecht zou werken is hier de reden, maar het feit dat *Lamblia* als zij cysten vormt dit blijkbaar over het algemeen zeer overvloedig doet, zodat deze ook bij het rechtstreekse onderzoek al in grote getale worden gevonden.

Ook het laxeren der patiënten levert ongetwijfeld betere resultaten op dan het rechtstreekse onderzoek. Hieraan kleven echter grote bezwaren. Voor *Lamblia*'s kan alleen een sterk laxans voor de dunne darm succes hebben, dikke darm laxantia geven niets. Ten tweede is voor het herkennen van *Ent. tenuis*, *Dient. fragilis*, *End. williamsi* en *End. nana* vaak een gekleurd preparaat noodzakelijk. Ten derde is van een groot gedeelte der Entamoeben niet met zekerheid uit te maken of het *Ent. histolytica* dan wel *Ent. coli* is en moet het onderzoek toch herhaald worden tot de betreffende cysten worden gevonden. Bovendien is het aantal infecties dezer 2 soorten op deze wijze opgespoord niet veel groter dan het aantal gevonden door middel ener concentratiemethode, terwijl bij deze laatste methode de differentiële diagnose over het algemeen wel gesteld kan worden. Omdat *Trichomonas* en *Dient. fragilis* geen cysten vormen moet het onderzoek hiernaar wel gebruik maken van de laxeermethode, eventueel nog aan te vullen met kweken. Voor de kliniek zijn deze 2 echter voor zover we weten van geen belang. Als routinemethode zou ik daarom aan de concentratiemethode de voorkeur geven boven de purgeermethode.

In het vorige hoofdstuk heb ik reeds de mening geuit dat het 4 maal op verschillende dagen onderzoeken van dezelfde persoon met behulp van een concentratiemethode verreweg de meeste infecties aan de dag brengt, *Trichomonas* en *Dient. fragilis* buiten beschouwing gelaten. Als ik een enigszins speculatieve taxatie mag doen dan geloof ik dat zo 90—95 % der infecties kunnen worden opge-

spoord, terwijl er met een eenmalig rechtstreeks onderzoek ongeveer 40—50 % worden gevonden.

Wat de waarde van het kweken betreft verwijs ik naar het onderzoek van Brug (1936), waarbij deze tot de conclusie kwam dat deze methode voor de praktijk ongeschikt is.

Als resultaat mijner beschouwingen kom ik tot de volgende opvatting voor het protozoënonderzoek:

1. Van elk ontlasting monster wordt een *eosinepreparaat* doorzocht. Indien de ontlasting geen vaste consistentie heeft is verse ontlasting een eerste vereiste, in andere gevallen is deze wenselijk. Dit preparaat dient voor het vinden van de vegetatieve vormen. Lamblia-cysten en voor een oriënterend onderzoek.
2. Geeft het onder 1 genoemde geen uitsluitsel en is een voldoende aantal cysten aanwezig dan wordt een *jodiumpreparaat* gemaakt.
3. Zijn weinig of geen cysten onder 1 gevonden dan wordt geconcentreerd met de *vereenvoudigde zinksulfaat-flottatiemethode*.
4. Wordt niets gevonden dan wordt het onderzoek op volgende dagen herhaald *totdat minstens 4 maal is onderzocht*.
5. Het laxeren van een patiënt is voornamelijk van belang voor het opsporen van *Trichomonas hominis* en *Dientamoeba fragilis*, omdat deze 2 protozoën soorten geen cysten vormen.
6. Bij het zoeken naar *Lambliia intestinalis* levert het concentreren weinig winst op, hiervoor kan men met het onder de punten 1 en 4 genoemde volstaan.

Voor het onderzoek op wormeieren staat de zaak geheel anders.

Ten eerste is het onderhavige onderzoek op dit punt zeer onvolledig. Volledigheid werd hier ook niet nagestreefd, slechts een oriëntering omtrent de waarde van Faust's methode stond op het programma. Trematodeneieren had ik niet tot mijn beschikking, maar aangezien de zinksulfaatmethode hiervoor toch ongeschikt is deed dit gelukkig niets ter zake.

Ten tweede hadden we hier te maken met eieren van *Ancylostoma duodenale* of *Necator americanus*, *Ascaris lumbricoides* en *Trichocephalus dispar* en hiervoor is het aantal eieren per gram ontlasting een globale graadmeter voor het aantal wormen in de darm. Deze Nematoden vermenigvuldigen zich niet in de darm en men kan bij

het vinden van weinig eieren bijvoorbeeld spreken van een lichte infectie. Hier doet zich nu de vraag voor: is een lichte infectie belangrijk?

Wat het eerste punt betreft bleek de methode van *F a u s t* voor wormeieren veel minder goed te voldoen dan de vereenvoudigde methode en deze weer minder dan de methode van *F ü l l e b o r n*. Het hogere soortelijk gewicht der verzadigde keukenzoutoplossing (1,2) is dus een voordeel (de 33 % zinksulfaatoplossing heeft een S.G. van 1,18), terwijl met het uitwassen bij de oorspronkelijke methode van *F a u s t* blijkbaar veel eieren verloren gaan. Voor onbevuchte *Ascariseieren* falen alle flottatiemethoden. Voor *Anguillulalarven* bevond ik de zinksulfaatmethoden als onbetrouwbaar, daarentegen de methode van *B r u g* eenvoudig en goed.

Wat het tweede punt betreft legt om te beginnen één *Ascaris* wijfje zoveel eieren, dat die altijd in een rechtstreeks preparaat zijn te vinden. Hiervoor is het concentreren overbodig en bovendien zou men alleen op een concentraat afgaande de onbevuchte eieren niet vinden en dus een infectie van enkel wijfjes over het hoofd zien. Wel heeft het zin de methode van *H e i n* toe te passen (droog uitstrijkje), omdat dit niet meer moeite kost, het aantal eieren per preparaat vrij groot is en de eieren bovendien zeer gemakkelijk opvallen.

Trichocephalus dispar gaat over het algemeen door voor onschuldig en daarnaast kennen we nog geen afdoend middel om hem af te drijven. Uit klinisch oogpunt is het constateren ener infectie dus van geen belang.

Van mijnwormen wordt de pathogeniteit bepaald door het aantal enerzijds en de lichamelijke conditie van de gastheer anderzijds, maar men mag aannemen, dat elke infectie van betekenis voor de kliniek door het rechtstreekse onderzoek kan worden aangetoond. Hiervoor is dus ook geen concentratiemethode nodig.

Bij *Anguillula stercoralis* komt waarschijnlijk wel een vermenigvuldiging in de darm voor en een infectie behoeft zich in het geheel niet te uiten door het afgaan van larven met de faeces. Het vinden van slechts enkele wormlarven zegt hier niets omtrent de sterkte der infectie. Daarom heeft hier een succesvolle concentratiemethode, in casu de methode van *B r u g*, wel nut.

Uit het bovenstaande volgt als slotsom:

1. Voor *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale* en *Necator americanus* is een gewoon *waterpreparaatje* voldoende. Voor *Ascaris* kan men eventueel een *droog uitstrijkje* maken.
2. Voor *Anguillula* (s. *Strongyloides*) *stercoralis* is de *methode van Brug* aan te bevelen.

HOOFDSTUK VII

ENIGE BIJKOMSTIGE BEVINDINGEN

Reeds is opgemerkt, dat het verkregen materiaal, afgezien van de 78 monsters van gerepatrieerden, kon worden beschouwd als representatief voor de Amsterdamse bevolking. Het gedane onderzoek geeft dus tevens een inzicht hoe het met de infectie van protozoën bij de Amsterdammers gesteld is.

TABEL XVII
INFECTIE INDEX

	onderzoek over 300 personen		onderzoek over 100 personen		
	eosine jodium	vereenv. FAUST	eosine jodium	vereenv. FAUST	4-malig onderz. + laxans
<i>Ongedifferentieerde entamoeben</i>					2 ⁰ / ₀
Ent. coli	24.3 ⁰ / ₀	32.7 ⁰ / ₀	26 ⁰ / ₀	36 ⁰ / ₀	51 ⁰ / ₀
Ent. histolytica	4.3 ⁰ / ₀	5.3 ⁰ / ₀	2 ⁰ / ₀	4 ⁰ / ₀	6 ⁰ / ₀
Ent. tenuis	2.7 ⁰ / ₀	4. ⁰ / ₀	3 ⁰ / ₀	6 ⁰ / ₀	7 ⁰ / ₀
End. williamsi	6.7 ⁰ / ₀	7.7 ⁰ / ₀	2 ⁰ / ₀	2 ⁰ / ₀	3 ⁰ / ₀
End. nana	17.3 ⁰ / ₀	24.7 ⁰ / ₀	16 ⁰ / ₀	24 ⁰ / ₀	37 ⁰ / ₀
Lamblia	7.3 ⁰ / ₀	7.3 ⁰ / ₀	2 ⁰ / ₀	3 ⁰ / ₀	4 ⁰ / ₀
Chilomastix	7.7 ⁰ / ₀	10.7 ⁰ / ₀	6 ⁰ / ₀	10 ⁰ / ₀	16 ⁰ / ₀
Dient. fragilis					10 ⁰ / ₀
Aantal geïnfecteerde personen					76 ⁰ / ₀

Tabel XVII geeft naast elkaar het percentage infecties, gevonden met het rechtstreekse onderzoek en gevonden met de vereenvoudigde zinksulfaat-flottatie-methode, van de reeks van 300 personen en

van de reeks van 100 personen. Van deze laatste ook nog het percentage na 4 malig onderzoek plus onderzoek na laxans. Nu is de serie van 300 gevallen in 1943 en 1944 bewerkt, de serie van 100 bijna geheel in 1946. Dit verklaart misschien de verschillen die er bij deze 2 series blijken te bestaan. Zo leverde de laatste reeks veel minder *Lambli*a intestinalis en *End.* williamsi op en ook het aantal *Ent.* histolytica vondsten was kleiner. Mogelijkerwijs heeft de hongerwinter hier invloed op uitgeoefend. Overigens wisselen protozoën vondsten met tijd en plaats. Zo vond Brug in 1935 met gelijksoortig materiaal door middel van laxeren en kweken $\pm 20\%$ *Ent.* coli, $\pm 13\%$ *Ent.* histolytica, 3% *Ent.* tenuis, $2,5\%$ *End.* williamsi, 16% *End.* nana, 6% *Lambli*a en 2% *Chilomastix*. Vele andere voorbeelden zouden nog zijn aan te halen. Het heeft dus weinig zin om te zeggen: de Amsterdammers zijn voor zoveel % besmet met die of die protozo. Waar ik echter op wijzen wilde is dat althans in de laatste jaren een zo groot gedeelte der bevolking besmet blijkt te zijn. In 1946 bleek $\frac{3}{4}$ der Amsterdammers één of meer protozoënsoorten te herbergen en evenals overal elders ter wereld staan de *Ent.* coli en *End.* nana infecties aan de spits. *Ent.* histolytica en *Lambli*a infecties (bij volwassenen) blijken in Nederland zeker geen uitzondering te zijn. Heel vaak kwamen multiële infecties voor.

Van de reeks van 100 onderzochte personen waren er 76 geïnfecteerd waarvan 28 personen met één, 38 personen met twee, 8 personen met drie en 2 personen met vier soorten, in totaal 136 infecties.

Bij de reeks van 300 onderzochte gevallen was elke persoon maar 1 maal (zij het op verschillende manieren) onderzocht. Hierbij werden 296 infecties opgespoord verdeeld over 184 personen, waarvan 111 met een enkelvoudige, 41 met een dubbele, 27 met een drievoudige, 3 met een viervoudige en 2 zelfs met een vijfvoudige infectie. Dat de verdeling hierbij meer naar de enkelvoudige infecties was verschoven is te verklaren doordat bij dit onderzoek hoogstens $\frac{3}{4}$ der infecties was opgespoord en doordat daarbij geen *Dient.* fragilis infecties waren opgenomen. Dat een dubbelinfectie *Ent.* coli—*End.* nana en een tripelinfectie *Ent.* coli—*End.* nana—*Chilomastix* nogal eens voor zou komen was, gezien de frequentie waarmee deze soorten voorkomen, te verwachten. Niet in overeenstemming met de kansrekening was echter de zeldzaamheid, waarmee *Ent.* histolytica

en *End. williamsi* als enkelvoudige infectie voorkwam, terwijl *Lamblia intestinalis* juist extra vaak de enig aanwezige darmprotozo was. Bij de serie van 100 kwam op 4 *Lamblia* infecties deze parasiet 3 maal alleen voor, bij de serie van 300 op 24 infecties 10 maal alleen. De 6 *Ent. histolytica*- en de 3 *End. williamsi* infecties van de serie van 100 waren alle een onderdeel van menginfecties, bij de serie van 300 kwam elk dezer beide soorten slechts 1 maal alleen voor op 16 *Ent. histolytica* en 24 *End. williamsi* infecties. Er bleek verder geen duidelijke voorkeur voor bepaalde combinaties te bestaan. Een verklaring hiervoor is mij niet bekend, alleen het feit wordt geconstateerd dat in Amsterdam *Ent. histolytica* en *End. williamsi* zelden, *Lamblia* daarentegen vrij vaak alleen voorkomt ¹⁾.

De amoeben bleken nogal eens geïnfecteerd te zijn met *Sphaerita*. Niet minder dan 4 maal vond ik deze parasiet bij *Ent. coli*, 5 maal bij *End. nana* en 1 maal bij *Ent. tenuis*.

Van de ontlasting verkregen na een laxans werd af en toe voor onderwijsdoeleinden een cultuur aangelegd. In 2 gevallen, bedoeld om *Chilomastix* te kweken, vond ik naast deze nog een duidelijk kleinere flagellaat. In een van deze cultures gelukte het de 2 flagellaten te scheiden, zodat ik een zuivere *Chilomastix* kweek had naast één met alleen kleine flagellaten. Nu beschrijft *Wenyon* (1926) kleine ronde vormen van *Chilomastix mesnili*, zonder zichtbaar cytostoom. De reinculturen, die ik had verkregen bleven echter gedurende 6 maanden zuiver (daarna gingen de kleine door een ongelukkige samenloop van omstandigheden verloren). De *Chilomastix*-kweek leverde geen kleine vormen, de kleine flagellaten vormden geen *Chilomastix*. Dit pleit er voor dat we hier met een afzonderlijke soort hadden te maken. De diertjes waren 4—10 μ groot, veel minder slank dan *Chilomastix mesnili*, doch zeker niet rond. Een cytostoom was niet te zien. Er waren 4 zweepdraden te tellen, waarvan 3 aan het vooreinde ontsprongen en 1 aan het wat toegespitste achtereinde. Dit was het beste te zien in een dik decoct van carrageen waardoor de bewegingen der flagellen sterk geremd werden ²⁾. De kern lag aan het brede vooreinde van het lichaam, was soms enigszins driehoekig

¹⁾ Wat betreft menginfecties zie *Yao en Ling* (1934) en *Boughton en Byrd* (1938).

²⁾ Zie ook *Brug* (1922).

en bezat een groot meestal wandstandig karyosoom. Vlak bij de kern lagen enige bazaalkorrels van waaruit de 3 kopflagellen ontsprongen en van waaruit misschien ook de 4de flagel ontsprong. Cysten vond ik nimmer. Deze beelden, die verkregen werden met de ijzerhaematoxylinekleuring volgens Heidenhain, geleken het meeste op Wenyons beschrijvingen van *Tricercomonas intestinalis* (1926) en ik neem aan inderdaad met deze flagellaat te maken gehad te hebben. (*Tricercomonas intestinalis* wordt als identiek beschouwd met *Enteromonas hominis*). Voor zover bekend was dit protozoön nog niet eerder in Nederland gevonden en ook elders ter wereld worden slechts sporadische vondsten gemeld. Eigenlijk toevallig vond



Fig. 1. *Tricercomonas intestinalis* (haematoxyline Heidenhain).

ik met behulp van de cultuur 2 gevallen, de eerste afkomstig van iemand die Nederland nooit had verlaten, de tweede van een persoon die ook in België en in Duitsland had gewoond. Later vond ik nog een derde infectie bij een gerepatrieerde¹⁾. Ook Svensson (1928) vond na laxeren kleine niet nader gedefinieerde flagellaten, op 46 patiënten 14 maal. Het lijkt mij niet onwaarschijnlijk dat infecties met *Tricercomonas* vaak over het hoofd gezien worden omdat ze zo klein zijn en omdat de vegetatieve vorm over het algemeen alleen in dunne ontlasting aanwezig zal zijn. Misschien zullen nadere onderzoekingen aantonen, dat *Tricercomonas* in het geheel niet zeldzaam is. (Zoals dit ook bij *Dient. fragilis* is gegaan).

¹⁾ In Batavia signaleerde Brug (1923) een paar gevallen van *Enteromonas hominis*.

In 1936 beschreef Brug de zogenaamde Bosmancysten, kleine vormsels die hij niet thuis kon brengen, maar die soms aan Blastocystis hominis deden denken. Deze „cysten“, die waarschijnlijk tot het plantenrijk behoren, komen soms in enorme hoeveelheden in de ontlasting voor en als men goed zoekt zijn ze bijna in elk ontlastingsmonster te vinden (ditzelfde geldt ook voor de Blastocysten). Gekleurd met haematoxyline volgens Delafield zijn ze onmiskenbaar: onregelmatige ovale of ronde vormsels, 4—8 μ groot, bestaande uit een binnenlichaam met 2 kernen en een wand daarvan gescheiden door een lege ruimte. Brug meende deze vormsels

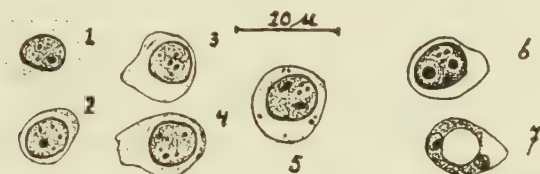


Fig. II. Bosman-cysten.

1. normaal aspect in eosine; 2, 3, 4 en 5. in eosine, met omhulsel; 6. typisch aspect in haematoxyline preparaat (Delafield-kleuring); 7. overgangsvorm tussen Bosmancyste en Blastocyste (Delafield-kleuring).

Al deze exemplaren uit hetzelfde faecesmonster.

alleen in het gekleurde preparaat te kunnen herkennen, in eosine of in jodium kon hij ze merkwaardigerwijs niet vinden.

Nu vond ik bij mijn concentratieproeven met zinksulfaat vaak vormsels die op het eerste gezicht sprekend op kleine cysten geleken. Ze waren gemiddeld wat kleiner dan End. nanacysten, bezaten een gladde wand en hadden een ronde of ovale vorm. Waardoor ze van protozoëncysten konden worden onderscheiden was dat ze een wisselend aantal groenige korrels bevatten, meestal een stuk of vier-vijf.

Er bestond een positieve correlatie tussen het vinden van deze objecten in het concentraat en het vinden van Bosmancysten in het gekleurde preparaat. Ze leken echter niet veel op elkaar: gekleurd een tweekernig binnenlichaam omgeven door een lege zône en een onregelmatige wand, in het concentraat een gladde dunne wand en enige sterk lichtbrekende insluitsels. Probeerde ik het concentraat te kleuren, dan leverde dit geen mooie overtuigende beelden op, maar

toch goed genoeg om mijn mening te staven dat we hier met Bosmancysten hadden te doen. Ook in het eosinepreparaat meende ik 4—7 μ grote, gladwandige ovale lichaampjes met sterk lichtbrekende korrels als Bosmancysten te kunnen herkennen. Twijfel bleef echter bestaan totdat een gelukkig toeval mij eens een faecesmonster in handen speelde met vele Bosmancysten die nu ook in eosine en in jodium als zodanig waren te herkennen. Ze deden zich voor als de kleine cysten met sterk lichtbrekende korrels boven reeds beschreven, maar sommige nu omgeven door een breed onregelmatig transparant omhulsel dat levendig aan het ongekleurde deel in de gekleurde preparaten deed herinneren. Het omhulsel deed denken aan slijm en kleurde met eosine licht rose, met jodium licht geel. Ook in het concentraat werden er enige met een zichtbaar omhulsel aangetroffen. Nadat ik er op verdacht was en ze eenmaal gezien had vond ik ze later nog wel eens met kapsel in andere faecesmonsters, maar het bleef bij zeer sporadische vondsten. De Bosmancysten zijn blijkbaar omgeven door een soort slijmmaassa die in eosine of jodium loslaat of verdwijnt, maar die door fixatie met de vloeistof van Schaudinn behouden blijft. Merkwaardig is alleen dat de korrels die in eosine en in jodium zo opvallen dit met de kleuring van Delafield niet doen. Toch geloof ik met dezelfde organismen te doen te hebben. Ook vond ik eens Bosmancysten in grote groepen bij elkaar. Er tussen in zaten Blastocysten en vormen die op beide soorten geleken, misschien overgangsvormen. Dergelijke vondsten doen vermoeden dat deze 2 soorten „cysten“ verschillende fasen zijn van hetzelfde organisme. Deze „Bosmancysten“ zijn in zoverre van belang dat de onervaren onderzoeker ze voor protozoëncysten zal houden en wel voor die van End. nana. Ze zijn echter kleiner en zijn te herkennen aan hun inhoud. Zij komen veel voor en laten zich uitstekend concentreren.

Eén der 78 faecesmonsters van gerepatrieerden bevatte vele Blastocysten wat op zichzelf heel gewoon is, maar het bijzondere in dit geval was dat een groot aantal hiervan eigenaardige insluitsels hadden. Met de ijzerhaematoxylinekleuring volgens Heidenhain werden deze insluitsels zwart. Ook buiten de Blastocysten werden deze objecten aangetroffen zeer variërende in grootte (tussen 5 en 25 μ lang). De langgerekte ruitvorm deed onmiddellijk denken aan de kristallen

van Charcot-Leyden maar verreweg de meeste misten de scherpe punten, de spitse einden waren meestal afgeknot of afgerond, soms gespleten. In een preparaat uit de verzameling van Prof. Brug, dat gemaakt was ter demonstratie der kristallen van Charcot-Leyden, waren er ook enkele met dergelijke afgeronde en afgeknotte punten, zij het dat deze vormen ver in de minderheid waren. Langeron en Du Noyer (1930) vermelden het bestaan van kristallen van Charcot-Leyden met afgeronde en met gespleten uiteinden. Daarom neem ik aan dat we ook hier met deze zogenaamde kristallen te doen hadden. Jammer genoeg kon ik geen tweede faecesmonster



Fig. III. Kristallen van Charcot-Leyden in *Blastocystis hominis* (haematoxyline Heidenhain).

van dezelfde persoon bemachtigen. Het waren de kleinere kristallen die door de Blastocysten waren opgenomen, maar sommige van die kristallen waren langer dan de diameter van de afgeronde Blastocyste groot was. De cyste was dan meer of minder spoelvormig uitgerekt. Wat Blastocysten precies zijn is onbekend, men rekent ze tot het plantenrijk. Blastocysten met insluitsels zijn beschreven doch voor zover mij bekend nog niet met deze kristallen als insluitsels en met zulke grote insluitsels dat de cyste als het ware uitgerekt wordt.

De kristallen van Charcot-Leyden komen o.a. nogal eens voor bij gevallen van amoebendysenterie en het vinden van deze vormsels is een aansporing om extra gespitst te zijn op Ent. histolytica. Bij deze persoon werd geen Ent. histolytica gevonden, doch er werd maar eenmaal ontlasting nagekeken, dus hierover is in dit geval geen uitsluitsel te geven.

Nog 2 merkwaardige vondsten wil ik hier vermelden.

De eerste was in één der faecesmonsters van een gerepatriceerde ons toegestuurd uit Hilversum. Naast enkele Ancylostomaeieren en

Anguillularlarven bleek deze ontlasting eieren van *Heterodera radicola* te bevatten. Deze eieren waren kleurloos, 74—79 μ lang en 24—26 μ breed, lang-ovaal van vorm met afgeronde einden, soms afgeplat of zelfs enigszins concaaf aan één of beide zijden. Zij hadden een dunne schaal, een morula door een vrije zône van de wand gescheiden en aan beide polen een kleurloze massa tussen morula en eischaal. Deze eieren, in 1919 door Kofoid en White toegeschreven aan „*Oxyuris incognita*” een onbekende parasiet van de



Fig. IV. Links: ei van *Heterodera radicola*.
Rechts: Ent. coli-cyste met 5 kernen (jodium-preparaat).

menselijke darm, zijn een mooi voorbeeld van passanten. *Heterodera radicola* is een parasiet van planten waaronder sla en radijsjes. Worden deze groenten rauw genuttigd dan kunnen de eieren ongedeed in de ontlasting verschijnen.

De tweede vondst betreft een cyste van Ent. coli met 5 kernen, waarvan er 4 ongeveer even groot waren en de 5e een diameter had die tweemaal zo groot was als die van de andere. Blijkbaar was deze grote kern niet minder dan twee delingen ten achter bij de zusterkern die door achtereenvolgende binaire delingen al vier dochterkernen had gevormd.

Over het algemeen vinden de kerndelingen gelijktijdig plaats waardoor de oudere cysten meestal een even aantal kernen hebben. Niet zo heel zelden geschieden de delingen niet synchroon en is het resultaat een oneven aantal kernen, waarbij de achtergebleven kern te herkennen is aan zijn grotere afmetingen. Wel vrij zeldzaam is dat een kern niet één maar twee delingen achtergebleven is zoals in het boven beschreven geval.

S U M M A R Y

An investigation was made as to the most efficient technic of detecting human intestinal protozoa.

The following concentration-technics were compared: Bayer's method, Faust's method (zinc sulphate floatation method), Otto's method (like Faust's, but without washing out with water and without centrifugalization) a simplified method of Faust (like Faust's, but without washing out with water; so: direct suspension of faeces in the 33 % ZnSO_4 solution and centrifugalization).

Faust's method yielded the best overall results; Faust's simplified method gave good results and Bayer's method failed for iodine cysts, gave moderate results for colicysts and was for other species of cysts at least as good as Faust's method. With Faust's simplified method an average concentration rate was reached of about 20 to 30 times, distinctly less than with Faust's original technic (table XIV), but the number of positive findings was only slightly less and that is the point. As compared with the direct examination in eosine (2 %) and iodine (2J, 3KJ, 100 H_2O) this method yields a gain of rather more than 30 % (table VII). This technic, on the other hand, as compared with Bayer's and Faust's methods, has the important advantage of saving time. Whereas the latter two require a period of 25 minutes this simplified method brings the time to get ready down to ten minutes, that is no longer than a direct iodine film takes.

With *Lambli*a-infections the concentration-technics were not very effective. Mostly so many cysts were present that they could already easily be located in the eosine film.

Purging of the patients yields undoubtedly better results than direct examination. There are, however, great objections attached

to it. For *Lamblia* colonic laxatives are unsuccessful. In order to identify *Ent. tenuis*, *Dient. fragilis*, *Iodamoeba bütschlii* and *End. nana* a stained film is often necessary. Of a great number of the *Entamoebae* it cannot be ascertained with certainty whether they are *Ent. histolytica* or *Ent. coli* (the absorption of red blood corpuscles was regarded as a certain criterium) and than the examination has to be repeated anyhow until the relative cysts are found. Moreover the number of infections of these two species found in this manner is not much larger than the number found by means of a concentration-technic, while with the latter the differential diagnosis can on the whole be made.

The examination makes it probable that, not considering *Trichomonas* and *Dient. fragilis*, examining faeces four times on different days with the aid of a concentration-technic locates 90—95 % of the infections, while direct investigation with eosine and iodine made only once yields 40—50 % (table XI).

For the value of cultivation I referred to Brug (1936a) who thought this method unsuitable for practicable purposes.

As a result I arrive at the following conception of protozoa investigation:

1. Of every sample of stools an eosine-film is examined. If the faeces have no firm consistency, fresh stools are a primary condition; in other cases this is desirable. This preparation serves to ascertain the presence of trophozoites, *Lamblia*-cysts and for an orientating investigation.
2. If the case mentioned sub 1 should not lead to a positive result and is a sufficient number of cysts present, an iodine-film is made.
3. If few or no cysts have been found a concentration is made with the simplified zinc-sulphate floatation technic.
4. If nothing should be discovered the examination is repeated on following days until at least four examinations have been made.
5. Purging of a patient is mainly of interest for locating *Trichomonas hominis* and *Dientamoebae fragilis* because these two species do not form cysts.
6. In looking for *Lamblia intestinalis* concentrating yields little result. For this the sub 1 and 4 mentioned points will suffice.

As Faust's method is stated to be also suitable for eggs of

some species of helminths and for *Strongyloides stercoralis* larvae, eggs of *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* and *Ancylostoma duodenale*, as well as the *Strongyloides* larvae were included in the examination.

For these eggs Faust's technic proved to be much less suitable than the simplified method and the latter again less than Fülleborn's technic (brine floatation, 1920) (table XV). So the higher specific gravity of the brine (1.2) is an advantage (the 33 % ZnSO_4 solution has a specific gravity of 1.18) while in the washing out of Faust's original method apparently many eggs get lost. With unfertilized *Ascaris* eggs all floatation methods fail. For *Strongyloides* larvae I found the zinc sulphate method unreliable, Brug's technic (1921a) on the other hand simple and practicable.

Another point at issue, however is whether concentrating of the eggs mentioned is sensible. One *Ascaris* female lays so many eggs that they can always be spotted in a direct preparation. Moreover, solely judging from the concentration, one would not be able to find the unfertilized eggs. If necessary a dry film may be made (Hein, 1927).

From a clinical point of view *Trichuris trichiura* is unimportant.

With hookworms it may be taken for granted that at every infection of clinical significance so many worms are present that the eggs can already be located in the direct examination.

A *Strongyloides*-infection needs not manifest itself when the larvae are passed together with the faeces. The discovery of only a few wormlarvae is not any definite proof of the intensity of the infection. Therefore, in these cases, a successful concentration-technic i.e. Brug's method, is efficient.

From the statements mentioned above follows the conclusion:

1. For *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale* and *Necator Americanus* an ordinary water-preparation is sufficient. For *Ascaris* Hein's technic may be applied if desired.
2. For *Strongyloides stercoralis* Brug's technic can be recommended.

In the last chapter some additional findings were dealt with.

- I. The Amsterdam population has been infected for three fourths with intestinal protozoa among which 5—10 % *Ent. histolytica*.

Ent. histolytica and *Iodamoeba bütschlii* nearly always occurred in combination with another species of protozoa, whereas *Lamblia intestinalis* was often found to be a simple infection. Not seldom there was an infection of the amoebae with *Sphaerita*.

- II. Three infections of *Tricercomonas intestinalis* were observed, two of which with persons who had never been outside Western Europe (fig. I page 72).
- III. Some observations on the so-called Bosmancysts (B r u g, 1936d) (fig. II page 73).
- IV. Mention of a case with crystals of Charcot-Leyden enclosed in *Blastocystis hominis* (fig. III page 75).

The investigation dealt with 878 samples of stools of 478 persons. 378 Persons of whom 78 out of Japanese camps were examined once; 100 persons were examined five times, of which once after the application of a laxative.

RÉSUMÉ

Une enquête a été faite sur la méthode la plus pratique pour constater les protozoaires intestinaux chez l'homme.

On a comparé les méthodes d'enrichissement suivantes: la méthode Bayer, la méthode Faust, (méthode de lévitation au sulfate de zinc), méthode Otto (comme Faust, mais sans lavage à l'eau et sans centrifugation), une méthode Faust simplifiée (comme Faust, mais sans lavage à l'eau, donc avec suspension directe des selles dans la solution de 33 % Zn. SO₄ et centrifugation).

La méthode Faust donnait les meilleurs résultats sur toute la ligne; la méthode Otto était très insatisfaisante; la méthode Faust simplifiée donnait de bons résultats et la méthode Bayer faisait faute pour les kystes iodophiles, donnait des résultats médiocres pour les kystes d'Ent. coli et pour les autres kystes elle était au moins égale à la méthode Faust. Au moyen de la méthode Faust simplifiée on atteignait une puissance d'enrichissement de 20 à 30 fois, sensiblement moins que par la méthode Faust originelle (tabl. XIV), mais le nombre de résultats positifs n'était guère plus petit, et c'est ce qui importe. Comparée à l'examen direct en lugol fort (2J, 3KJ, 100 H₂O), cette méthode offre un bénéfice de plus de 30 %. Quand on la compare aux méthodes Bayer et Faust, on constate un avantage très important quant à l'économie du temps. Si ces dernières demandent 25 minutes, en appliquant cette méthode simple on peut être prêt en dix minutes, c.à.d. il ne faut pas plus de temps que pour une préparation d'iode directe.

Pour les infections par Lamblias les méthodes de centrifugation étaient peu efficaces. Le plus souvent il y avait tant de kystes qu'ils se laissaient très facilement trouver déjà dans la préparation de lugol.

La purge des malades donne indubitablement de meilleurs ré-

sultats que l'examen direct. Elle offre cependant de grands inconvénients. Pour les *Lamblias* les purges du côlon sont sans effet. Afin de reconnaître l'Ent. tenuis, le Dient. fragilis, l'Iodamoeba bütschlii et l'End nana, une préparation colorée est souvent nécessaire. D'un grand nombre d'entamibes on ne peut pas dire avec certitude si nous avons affaire à Ent. histolytica ou bien à Ent. coli (seulement les hématies phagocytées furent considérées comme critérium absolu) et encore faut-il répéter l'examen jusqu'à ce qu'on ait trouvé les kystes en question. En outre le nombre d'infections de ces deux espèces, découverts de cette façon, n'est pas beaucoup plus grand que celui trouvé par la méthode de centrifugation, tandis qu'il est en général possible d'établir le diagnostic différentiel.

L'examen nous apprend avec probabilité que, exception faite pour *Trichomonas* et *Dient. fragilis*, en examinant les selles quatre fois à des jours différents au moyen d'une méthode de centrifugation, on peut découvrir 90 à 95 % des infections, tandis que l'unique examen direct ne donne que 40 à 50 % de résultants (tabl. XI).

Pour la valeur des cultures on réfère à Brug (1936a) qui estimait cette méthode impropre à la pratique.

Résumant, j'arrive à la conception suivante pour l'examen des protozoaires:

1. De toutes les selles on examine une préparation d'éosine. Si les selles ne sont pas moulées, il est indispensable qu'elles soient fraîches; pour les autres cas ceci est désirable. Cette préparation sert à trouver les trophozoïtes, les kystes des *Lamblias* et pour un examen d'orientation.
2. Si, ce qui a été mentionné sous 1 ne donne pas de résultat et qu'on constate un nombre suffisant de kystes, on fera une préparation à l'iode.
3. S'il a été trouvé sous 1. peu de kystes, ou s'ils manquent, on fera une centrifugation en appliquant la méthode de lévitation simplifiée au sulfate de zinc.
4. Si on ne trouve rien, on répétera l'examen à des jours successifs, jusqu'à ce qu'on ait examiné au moins quatre fois.
5. La purge du malade est surtout d'importance pour découvrir le *Trichomonas hominis* et le *Dientamoeba fragilis*, ces deux espèces ne formant pas de kystes.
6. Pour la recherche du *Lamblia intestinalis* la centrifugation offre

peu d'avantages; en ce cas les méthodes mentionnées sous 1. et 4. suffisent

Comme la méthode *Faust* est aussi considérée utile pour les oeufs de quelques espèces d'helminthes et pour les larves des *Strongyloides stercoralis*, on a aussi examiné les oeufs des *Ascaris lumbricoides*, de *Trichuris trichiura* et de l'*Ancylostoma duodenale*, ainsi que les larves des *Strongyloides*.

Pour ces oeufs la méthode *Faust* donnait beaucoup moins de satisfaction que la méthode simplifiée, tandis que celle-ci était inférieure à la méthode *Fülleborn* (lévitation de saumure) (tabl. XV). Le poids spécifique supérieur (1,2) offre donc un avantage (solution aqueuse de sulfate de zinc à 33 %, $d = 1,18$), tandis que beaucoup d'oeufs se perdent apparemment au lavage dans la méthode *Faust* originelle. Pour les oeufs des *Ascaris* non-fécondés toutes les méthodes de lévitation sont sans effet. Pour les larves des *Strongyloides* j'ai trouvé les méthodes au sulfate de zinc sujettes à caution, la méthode *Brug* (1921a) au contraire me paraissait simple et bonne.

Une autre question cependant est de savoir si la centrifugation des oeufs mentionnés a beaucoup de valeur. La femelle d'un *Ascaris* pond tant d'oeufs que leur présence peut toujours être constatée dans une préparation directe. En outre en se fiant uniquement à la centrifugation, on ne trouverait pas les oeufs non-fécondés. Au besoin, on pourrait faire un étalement sec. (*Hein*, 1927).

Du point de vue cilinque, le *Trichuris trichiura* est peu intéressant.

Pour l'*Ankylostome* il est permis de supposer que dans chaque infection d'importance clinique il se présente tant d'helminthes qu'on peut trouver les oeufs déjà à l'examen direct.

Une infection de *Strongyloides* ne se manifeste pas nécessairement par l'expulsion de larves avec les selles. Le fait qu'on trouve quelques larves ne dit rien quant à l'intensité de l'infection. C'est pourquoi une méthode de centrifugation effective, notamment celle de *Brug*, peut être utile.

De ce qui précède nous pouvons résumer:

1. Pour *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale* et *Necator americanus*, une préparation ordinaire suffit. Pour *Ascaris* on peut à la rigueur appliquer la méthode *Hein*.

2. Pour *Strongyloides stercoralis* la méthode Brug se recommande.

Le dernier chapitre traite de quelques constations accessoires.

- I. La population d'Amsterdam est infectée pour 75 % par des protozoaires intestinaux, parmi lesquels 5—10 % *Ent. histolytica*.
Ent. histolytica et *Iodamoeba bütschlii* se présentaient presque toujours mêlés à une autre espèce de protozoaires, tandis que *Lamblia intestinalis* était souvent trouvé comme infection simple. L'infection des amibes par *Sphaerita* n'était pas rare.
- II. Trois infections par *Tricercomonas intestinalis* furent constatées, dont deux chez des personnes qui n'avaient jamais séjourné hors de l'Europe occidentale (fig. I page 72).
- III. Quelques réflexions sur les soi-disant „Bosman-kystes" (Brug, 1936d) (fig. II page 73).
- IV. Mention faite d'un cas avec des cristaux Charcot-Leyden enfermés dans *Blastocystis hominis* (fig. III page 75).

L'examen se répandait sur 878 échantillons de fèces de 478 personnes. 378 personnes dont 78 de camps japonais furent examinées une fois, 100 personnes cinq fois, dont une après un purgatif.

ZUSAMMENFASSUNG

Eine Untersuchung hat stattgefunden nach der meist praktischen Methode zur Aufspürung der Darmprotozoen des Menschen.

Die nachfolgenden Anreicherungsverfahren sind verglichen worden: die B a y e r methode, die F a u s t methode (Zinksulfat-Schwimm-Methode), die O t t o methode (wie F a u s t, aber ohne Spülung mit Wasser und ohne zentrifugieren), eine vereinfachte F a u s t methode (wie F a u s t, aber ohne Wasserspülung, also mit direkter Suspendierung in der 33 % ZnSO_4 Auflösung und mit zentrifugieren).

Die F a u s t methode gab die besten Ergebnisse über der ganzen Linie, die O t t o methode war sehr unbefriedigend, die vereinfachte F a u s t methode hatte gute Ergebnisse und die B a y e r methode fehlte für Jodcysten, gab mäßige Erfolge für Colicysten, und war, was betrifft die andern Cystensorten der F a u s t methode am mindesten gleich.

Durch Anwendung der F a u s t methode bekam man ein durchschnittliches Anreicherungsvermögen von 20 bis 30 mal, sichtbar weniger als mit der ursprünglichen Methode F a u s t (Tabel XIV), aber die Anzahl der positive Fünde war nur wenig geringer, und das ist doch das Wichtige. Im Vergleich zur direkten Untersuchung in Eosin (2 %) und Jod (2J, 3 KJ, $100\text{H}_2\text{O}$) ergibt diese Methode einen Gewinn von mehr als 30 % (Tabel VII). Der B a y e r- und F a u s t methoden gegenüber haben wir den wesentlichen Vorteil der Zeitersparung. Wenn die beiden letzten 25 Minuten fragen, kann man durch diese einfache Methode in 10 minuten fertig sein, das heisst in derselben Zeit als man braucht für ein direktes Jodpräparat.

Für die *Lambli*a-infektionen gab die Anreicherungsverfahren wenig Erfolg. Meistens wurden soviel Cysten vorgefunden, dass sie schon im Eosinpräparat leicht zu finden waren.

Das laxieren der Patienten ergibt ohne Zweifel bessere Erfolge als die direkte Untersuchung. Dennoch gibt es grosse Beschwerden. Für *Lamblias* bleibt der Laxans des Dickdarms ohne Erfolg. Für die Erkennung von *Ent. tenuis*, *Dient fragilis*, *Jodamoeba bütschlii* und *Ent. nana* ist oft ein gefärbtes Präparat notwendig. Von einer grossen Anzahl der Entamoeben lässt sich nicht mit Sicherheit feststellen, ob es *Ent. histolytica* oder *Ent. coli* ist. (Nur phagocytierte rote Blutkörperchen werden als ein absolutes Kriterium betrachtet) und dann soll man die Untersuchung wiederholen bis die betreffenden Cysten gefunden werden. Überdem ist die Anzahl der Infektionen dieser Zwei Arten in dieser Weise aufgespürt, nicht viel grösser als die Zahl deren, gefunden durch Anwendung einer Anreicherungs-methode, weil bei diesen letzten die differential Diagnose im allgemeinen wohl zu stellen ist.

Die Untersuchung macht es wahrscheinlich, dass, *Trichomonas* und *Dient. fragilis* ausser Betracht gelassen, mit einer viermaligen Untersuchung des Stuhles an verschiedenen Tagen mittels einer Anreicherungs-methode, 90—95 % der Infektionen aufgespürt werden, während die einmalige direkte Untersuchung mit Eosin und Jod 40—50 % ergibt. (Tabel XI).

Für den Wert des Kulturverfahrens wird verwiesen auf Brug (1936a) der diese Methode für den Praxis untauglich fand.

Als Resultat gelange ich zur folgenden Auffassung für die Protozoen-Untersuchung:

1. Von jeder Stuhlprobe wird ein Eosinpräparat untersucht. Wenn der Stuhl weich ist, ist es unbedingt notwendig dass er frisch sei; in andern Fällen ist dies erwünscht. Dieses Präparat dient zur Aufspürung von vegetativen Formen, *Lambliacysten* und zu einer orientierenden Untersuchung.
2. Gibt das unter 1 genannte keine Entscheidung, und gibt es eine genügende Anzahl von Cysten, dann wird ein Jodpräparat gemacht.
3. Sind wenige oder keine Cysten unter 1 gefunden worden, dann wird eine Anreicherung gemacht nach der vereinfachten Zink-sulfaat-Schwimm-Methode.
4. Wird nichts angetroffen, dann wiederholt man die Untersuchung an folgenden Tagen, bis wenigstens viermal untersucht worden ist.
5. Das laxieren des Patienten ist hauptsächlich wichtig für die Auf-

spürung von *Trichomonas hominis* und *Dientamoeba fragilis*, weil diese beiden Arten keine Cysten formen.

6. Bei der Untersuchung nach *Lamblia intestinalis* hat die Anreicherung wenig Erfolg; statt dessen genügt das unter 1 und 4 gemeldete.

Weil die *F a u s t* methode auch als geeignet wird betrachtet, für Eier einiger Wurmarten und für die Larven von *Strongyloides stercoralis*, werden auch die Eier von *Ascaris lumbricoïdes*, *Trichuris trichiura* und *Ancylostoma duodenale*, somit *Strongyloides*-Larven in der Untersuchung mit eingezogen.

Es ergab sich, dasz. für die Eier die *F a u s t* methode weniger befriedigte als die vereinfachte Methode, und diese wieder weniger als die *F ü l l e b o r n* methode (Kochsalzlösung-Schwimm-Methode) (Tabel XV). Das höhere spezifische Gewicht der Kochsalzlösung (1,2) ist also ein Vorteil (die 33 % Zinksulfatlösung hat ein S.G. = 1,18), weil mit der Spülung der ursprünglichen *F a u s t* methode viele Eier verloren gehen. Alle Schwimm-Methoden fehlen für unbefruchtete *Ascariseier*. Für die Larven von *Strongyloides* fand ich die Zinksulfatmethoden unzuverlässig, das *B r u g s c h e* Verfahren (1921) dagegen einfach und gut.

Etwas anders aber ist die Frage ob die Anreicherung der genannten Eier viel Zweck hat. Ein *Ascaris* weibchen legt soviel Eier, dasz diese sich immer in einem direkten Präparat finden lassen. Überdies würde man, wenn man sich nur auf der Anreicherung verliesz, die unbefruchteten Eier nicht finden. Eventuell kann man ein trockenes Ausstrichpräparat machen (*H e i n*, 1927).

Vom klinischen Gesichtspunkt betrachtet ist *Trichuris trichiura* unwichtig.

Für *Ankylostomen* kann man annehmen, dasz bei jeder Infektion von klinischer Bedeutung so viel Würmer da sind, dasz die Eier schon bei der direkten Untersuchung zu finden sind.

Eine *Strongyloides*-infektion braucht sich nicht unbedingt zu zeigen durch das Abführen von Larven mit dem Stuhl. Der Nachweis von nur einigen Wurmlarven sagt nichts über die Stärke der Infektion. Deshalb ist es nützlich eine erfolgreiche Anreicherungsmethode anzuwenden.

Aus dem Vorgehenden lässt sich feststellen:

1. Für *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale* und *Necator americanus* genügt ein einfaches Wasserpräparat. Für *Ascaris* kann man eventuell die *Hein* methode anwenden.
2. Für *Strongyloides stercoralis* empfiehlt sich das *Brug* sche Verfahren.

Im letzten Abschnitt werden einige Nebebefindungen behandelt.

- I. Die Bevölkerung von Amsterdam ist für 75 % infiziert mit Darmprotozoen von welchen 5—10 % *Ent. histolytica*.
Ent. histolytica und *Jodamoeba bütschlii* fanden sich fast immer gemischt mit einer andern Protozoenart vor, weil *Lamblia intestinalis* oft als einfache Infektion angetroffen wurde. Infektion der Amöben mit *Sphaerita* war nicht seltsam.
- II. Drei Infektionen von *Tricomonas intestinalis* wurden festgestellt, von welchen zwei bei Personen, die niemals West-Europa verlassen hatten. (fig. I Seite 72).
- III. Einige Betrachtungen zur sogenannten Bosmancysten (*Brug*, 1936d). (Fig. II Seite 73).
- IV. Meldung eines Falles mit Kristallen von *Charcot-Leyden* eingeschlossen in *Blastocystis hominis* (Fig. III Seite 75).

Die Untersuchung erstreckte sich über 878 Stuhlproben von 478 Personen. 378 Personen, wovon 78 aus japanischen Lagern, wurden einmal untersucht; 100 Personen wurden fünfmal untersucht, von denen eine nach einem Laxanz.

GECITEERDE LITERATUUR

- Acton, H. W. 1918. The significance of Charcot crystals in the faeces as an indication of amoebic colitis. *Ind. Jour. Med. Res.* **6**, 157.
- Andrews, J. 1934. The diagnosis of intestinal protozoa from purged and normally passed stools. *Jour. Paras.* **20**, 253.
- D'Antoni, J. S. 1937. Standardization of the iodine stain for wet preparations of intestinal protozoa. *Am. Jour. Trop. Med.* **17**, 79.
- Aschley, T. 1935. Effects of environmental changes on growth and multiplication in populations of *Balantidium*. *Am. Jour. Hyg.* **21**, 151.
- Baermann, G. 1917. Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum-(Nematoden)-Larven in Erdproben. *Gen. Tijdschr. Ned. Ind.* **57**, 131.
- Barrow, J. V. en Woodard, S. 1931. A study of human amebiasis by means of the motionpicture. *Jour. Am. Med. Ass.* **96**, 167.
- Bass, C. C. 1906. Uncinariasis in Mississippi. *Jour. Am. Med. Ass.* **43**, 185.
- 1909. Mild Uncinariasis infection. *Arch. Int. Med.* **3**, 446.
- Bax, W. F. 1924. De therapie der amoebiasis met yatren. Proefschr. Amsterdam.
- Boeck, W. C. en Drbohlav, J. 1925. The cultivation of *Endamoeba histolytica*. *Am. Jour. Hyg.* **5**, 371.
- Bonne, C. 1935. Over niet herkende amoebendysenterie bij lijdens aan andere ziekten. *Gen. Tijdschr. Ned. Ind.* **75**, 470.
- Boughton, D. C. en Byrd, E. E. 1938. On the incidence of mixed infections with intestinal protozoa. *Am. Jour. Hyg.* **27**, 88.
- Brown, D. C. 1930. Effect of vital stains on cultures of *Endamoeba histolytica*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **33**, 255.
- Brug, S. L. 1917a. Een paar nieuw ontdekte darmparasieten. *Gen. Tijdschr. Ned. Ind.* **57**, 570.
- 1917b. Les kystes des amibes intestinales de l'homme. *Bull. Soc. Path. Exot.* **10**, 799.
- 1919a. Het voorkomen van *Balantidium coli* in Ned. Indië. *Gen. Tijdschr. Ned. Ind.* **59**, 894.
- 1919b. *Endolimax williamsi*: the amoeboid form of the iodine cysts. *Ind. Jour. Med. Res.* **6**, 386.
- 1919c. La coloration des entamibes intestinales des selles. *Bull. Soc. Path. Exot.* **12**, 71.
- 1921a. De methode van Baermann toegepast op het onderzoek der faeces op mijnwormeieren. *Gen. Tijdschr. Ned. Ind.* **61**, 565.

- 1921b. Opzending van materiaal ter onderzoek op darmprotozoën. Idem **61**, 574.
- 1922a. Coccidiose bij den mensch. Idem **62**, 368.
- 1922b. Quelques observations sur les protozoaires, parasites intestinaux de l'homme et des animaux. Bull. Soc. Path. Exot. **15**, 132.
- 1923. Protozoologische waarnemingen. Gen. Tijdschr. Ned. Ind. **63**, 620.
- 1925. Zur Epidemiologie der Amöbendysenterie. Arch. Schiffs Trop. Hyg. **29**. Beiheft I, 26.
- 1935. De parasitologische diagnostiek van de menselijke faeces. Batavia.
- 1936a. Voorlopig onderzoek naar de praktische waarde der cultuur van darmprotozoën. Feestbundel Gen. Tijdschr. v. Ned. Ind. 411.
- 1936b. Dientamoeba fragilis. Idem. **76**, 1288.
- 1936c. Die Eosinmethode bei der Stuhluntersuchung auf Protozoën. Arch. Schiffs Trop. Hyg. **60**, 522.
- 1936d. On particular binucleate bodies often found in human faeces. Ann. Trop. Med. Paras. **30**, 33.
- Brug, S. L. en Verhagen, H. 1946. Een geval van infectie met *Balantidium coli*. Ned. Tijdschr. Gen. **90**, 93.
- Brumpt, E. 1925. Etude sommaire de l'Entamoeba dispar n. sp., amibe à kystes quadrinucléés, parasite de l'homme. Bull. Acad. Medic. **94**, 943.
- 1936. Précis de Parasitologie. Parijs.
- Bruns, H. 1911. Ueber Ankylostomiasis. Deut. med. Wochenschr. **37**, 397.
- Charles, J. en Barthélemy, E. 1917. Procédé special d'homogenisation et de tamisage pour collecter les kystes dysenteriques contenus dans les selles. C. R. Soc. Biol. **80**, 402.
- Castex, M. R. en Greenway, D. J. 1925. Le rôle pathogène du *Chilomastix mesnili*. Bull. Soc. Path. Exot. **18**, 137.
- 1925. Les protozoaires dans l'intoxiation intestinale. Idem **18**, 177.
- Chalmers, A. J. en Archibald, R. J. 1915. The cure of amoebic dysentery. Jour. Trop. Med. Hyg. **8**, 181.
- Cleveland, L. R. en Collier, J. 1930. Various improvements in the cultivation of *Entamoeba histolytica*. Am. Jour. Hyg. **12**, 606.
- Cochran, S. 1915. Concentration of Helminth ova from faeces. China Med. Jour. **29**, 398.
- Connal, A. en Young, W. A. 1922. A case of human coccidiosis in Nigeria. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. **16**, 90.
- Connal, A. 1922. Observations on the pathogenicity of *Isospora hominis* Rivolta emend. Dobell, based on a second case of human coccidiosis in Nigeria, with remarks on the significance of Charcot-Leyden crystals in the faeces. Idem. **16**, 223.
- Councilman, W. T. en Lafleur, H. A. 1891. Amoebic dysentery. Johns Hopkins Hosp. Rep. **2**, 393.
- Craig, C. F. 1908. Studies upon amebae in the intestine of man. Jour. Inf. Dis. **5**, 324.

- 1926. A simplified method for the cultivation of *Endamoeba histolytica*. Am. Jour. Trop. Med. **6**, 333.
- 1927. Observations upon the hemolytic, cytolytic and complementbinding properties of extracts of *Endamoeba histolytica*. Idem. **7**, 225.
- 1929. The technic and results of a complement fixation test in the diagnosis of infections with *Endamoeba histolytica*. Idem. **9**, 277.
- 1933. Further observations upon the complement fixation test in the diagnosis of amebiasis. An analysis of the results of the test in one thousand individuals. Jour. Lab. Clin. Med. **18**, 873.
- 1944. The etiology, diagnosis, and treatment of amebiasis. Baltimore.
- Craig, C. F. en Faust, E. C. 1945. Clinical Parasitology. Philadelphia.
- Craig, C. F. en Kagy, E. S. 1933. A study of complement fixation in experimental amebiasis in dogs. Am. Jour. Hyg. **18**, 202.
- Cram, E. B. en Reardon, L. 1939. Studies on Oxyuriasis. XII. Epidemiological findings in Washington, D.C. Idem **29**, Sect. D. 17.
- Cropper, J. W. en Row, R. W. H. 1917. A method of concentrating entamoeba cysts in stools. Lancet, I, 179.
- Cunningham, D. D. 1871. A report on cholera Ann. Rep. San. Commissioner Govt. India (Calcutta).
- Curran, J. A. 1928. Experiments with the use of carmine stains for the detection and differentiation of intestinal protozoa. Am. Jour. Trop. Med. **8**, 353.
- Cutler, D. W. 1918. A method for cultivation of *Entamoeba histolytica*. Jour. Path. Bact. **22**, 22.
- Cutler, D. W. en Williamson, R. 1917. A rapid method for the differentiation of the amoeboid forms of *Entamoeba histolytica* from those of *Entamoeba coli*. Idem. **21**, 511.
- Darling, S. T. 1911. The intestinal worms of three hundred insane patients detected by special methods. Bull. Soc. Path. Exot. **4**, 334.
- 1913. The identification of the pathogenic entamoeba of Panama. Ann. Trop. Med. Paras. **7**, 321.
- Davaine, C. 1860. Traité des Entozoaires. Parijs.
- 1854. Sur des animalcules infusoires trouvés dans les selles de malades atteints du choléra et d'autre infections. C. R. Soc. Biol. **1**, 129.
- Deschiens, R. 1924. Variations tinctoriales et métabolisme de l'amidon chez *Giardia*. Bull. Soc. Path. Exot. **17**, 889.
- Dobell, C. 1917. Reports upon investigations in the United Kingdom of dysentery cases received from the Eastern Mediterranean. I. Amoebic dysentery and the protozoological investigation of cases and carriers. Med. Res. Council, Spec. Rep. Series, No. 4, Londen.
- 1919. The Amoebae Living in Man. Londen en New York.
- 1920. The discovery of the intestinal protozoa of man. Proc. Roy. Soc. Med. **13**, sect. hist. of med. 1.
- 1928. Researches on the intestinal protozoa of monkeys and man. I. General introduction and II. Description of the whole life-history of *Entamoeba histolytica* in cultures. Parasit. **20**, 357.

- 1931. Idem IV. An experimental study of the Histolyticalike species of *Entamoeba* living naturally in Macaques. Idem. **23**, 1.
- 1933. Idem V. The Endolimax of Macaques. Idem. **25**, 436.
- 1935. Idem VII. On the *Enteromonas* of Macaques and *Embadomonas intestinalis*. Idem. **27**, 564.
- 1936. Idem VIII. An experimental study of some simian strains of *Entamoeba coli*. Idem. **28**, 541.
- 1938. Idem IX. The life-history of *Entamoeba coli*, with special reference to metacystic development. Idem. **30**, 195.
- 1940. Idem X. The life-history of *Dientamoeba fragilis*: observations, experiments, and speculations. Idem. **32**, 417.
- 1943. Idem XI. The cytology and life-history of *Endolimax nana*. Idem. **35**, 134.
- 1942. Some new methods for studying intestinal amoebae and other protozoa. Idem. **34**, 101.
- Dobell, C. en Jepps, M. W. 1918. A study of the diverse races of *Entamoeba histolytica* distinguishable from one another by the dimensions of their cysts. Idem. **10**, 320.
- Dobell, C. en Laidlaw, P. P. 1926. On the cultivation of *Entamoeba histolytica* and some other entozoic amoebae. Idem. **28**, 283.
- Dobell, C. en O'Conner, F. W. 1921. The Intestinal Protozoa of Man. Londen en New York.
- Doflein, F. en Reichenow, E. 1929. Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena.
- Donaldson, R. 1917. An easy and rapid method of detecting protozoal cysts in faeces by means of wet-stained preparations. Lancet I, 571.
- Elmassian, M. 1909. Sur une nouvelle espèce amibienne chez l'homme, *Entamoeba minuta*, n. sp., morphologie-évolution-pathogénie. Centr. bl. Bakt. Orig. **52**, 335.
- Essed, W. F. R. 1939. Parasitologische diagnostiek voor den medicus practicus in Nederlandsch Indië. Gen. Tijdschr. Ned. Ind. **79**, 2918.
- Faust, E. C. 1930. A method for obtaining a pure culture of *Balantidium coli*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **27**, 648.
- 1930. The diagnosis of *Entamoeba histolytica*. IXX. ann. rep. United Fruit Comp., Med. Dep. 61.
- 1939a. Human Helminthology. Philadelphia.
- 1939b. Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of protozoa and helminths in faeces. Jour. Paras. **25**, 141.
- 1939c. Clinical significance of newer methods for the diagnosis of intestinal parasites. New Orleans Med. Surg. Jour. **91**, 447.
- 1941. Amebiasis in the New Orleans population as revealed by autopsy examination of accident cases. Am. Jour. Trop. Med. **21**, 35.
- 1942. The prevalence of amebiasis in the Western Hemisphere. Idem. **22**, 93.
- Faust, E. C. en Meleney, H. E. 1924. Studies on *Schistosomiasis japonica*. Am. Jour. Hyg. Monogr. Ser. No. 3.
- Faust, E. C. et al. 1938. A critical study of clinical laboratory technics for

- the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. *Am. Jour. Trop. Med.* **18**, 169.
- Flu, P. C. 1916. Enkele beschouwingen over parasitische protozoën uit den darm van den mensch. *Gen. Tijdschr. v. Ned. Ind.* **56**, 672.
- Frye, W. W. en Meleney, H. E. 1937. The pathogenicity of a strain of small race of *Endamoeba histolytica*. *Jour. Paras.* **22**, 555.
- 1938. *Idem.* *Am. Jour. Hyg.* **28**, 580.
- Fülleborn, F. 1920. Die Anreicherungen der Helmintheneier mit Kochsalzlösung. *Deut. med. Wochenschr.* **26**, 714.
- Günzburg, 1911. Eine neue Methode der Untersuchung auf Bandwurmeier. *Ref. Arch. Schiffs. Trop. Hyg.* **16**, 604.
- Hall, M. C. 1937. Studies on Oxyuriasis. Types of anal swabs and scrapers with a description of an improved type of swab. *Am. Jour. Trop. Med.* **17**, 445.
- Haughwouth, F. G. 1923. A plea for the more thorough training of microscopists in the diagnosis of intestinal affections. *The China Med. Jour.* July 1923.
- 1924. The microscopic diagnosis of the dysenteries at their onset. *Jour. Am. Med. Ass.* **83**, 1156.
- Hegner, R. W. 1926. Homologies and analogies between free-living and parasitic protozoa. *The Am. Naturalist* **60**, 516.
- Hegner, R. W. en Cort, W. W. 1921. *Diagnosis of protozoa and worms parasitic in man.* Baltimore.
- Hein, G. E. 1927. Cedar oil as an aid in finding parasitic ova in feces. *Jour. Lab. Clin. Med.* **12**, 1117.
- Herrlich, A. en Liebmann, H. 1943. Zur Kenntnis der menschlichen Coccidien. *Zeitschr. Hyg. Inf. kr.* **125**, 331.
- Hinshaw, H. C. en Showers, E. M. 1934. A survey of human intestinal protozoan parasites in Philadelphia. *Am. Jour. Med. Sc.* **158**, 108.
- Izar, G. 1914. Ueber das Vorkommen spezifischer Antikörper im Serum von Amöbenruhrkranken (*Entamoeba tetragena*). *Arch. Schiffs. Trop. Hyg.* **18**, Beiheft II, 26.
- James, W. M. 1926. Remarks on the diagnosis of intestinal amoebiasis. XV. *ann. rep. United Fruit Comp., Med. Dep.* 81.
- Jepps, M. W. en Dobell, C. 1918. *Dientamoeba fragilis* n.g., n. sp., a new intestinal amoeba from man. *Parasit.* **10**, 325.
- Kartulis, S. 1891. Einiges über die Pathogenese der Dysenterieamöben. *Centrbl. Bakt.* **9**, 365.
- Kellogg, W. H. en Scott, E. A. 1937. The laboratory diagnosis of amebiasis. *Am. Jour. Publ. Health* **27**, 813.
- Kessell, J. F. 1928. Intestinal protozoa of monkeys. *Univ. California Publ. Zool.* **31**, 275.
- Knowles, R. 1925. New conceptions in amoebiasis. *Indian Med. Gaz.* **61**, 503.
- Klofoid, C. A. en Barber, M. A. Rapid method for detection of ova of intestinal parasites in human stools. *Jour. Am. Med. Ass.* **71**, 1557.

- Koolemans Beynen, G. J. W. 1917. Over dysenterie amoeben. Ned. Tijdschr. Gen. **61**, 428.
- Kruse, W. en Pasquale, A. 1894. Untersuchungen über Dysenterie und Leberabsces. Zeitschr. Hyg. **16**, 1.
- Kuenen, W. A. 1914. De entamoeben van den mensch en de amoebendysenterie. Gen. Tijdschr. Ned. Ind. **54**, 235.
- Kuċnen, W. A. en Swellengrebel, N. H. 1913. Die Entamoeben des Menschen und ihre praktische Bedeutung. Centr. bl. Bakt. Orig. **71**, 378.
- 1917. Korte beschrijving van enkele minder bekende protozoën uit de menschelijke darm. Gen. Tijdschr. Ned. Ind. **57**, 496.
- Lane, C. 1923—1925. The mass diagnosis of Ankylostoma infestation. I—XIV. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. **16—19**.
- Lambl, W. 1859. Mikroskopische Untersuchungen der Darm-Excrete. Vierteljahrschr. prakt. Heilk. (Prag) **61**, 1.
- Langeron, M. en Du Noyer, R. 1930. Coprologie microscopique. Parijs.
- Lewis, T. R. 1870. A report on the microscopic objects found in cholera evacuations. Ann. Rep. San. Commissioner Govt. India (Calcutta).
- Looss, A. 1897. Notizen zur Helminthologie Egyptens II. Centr. bl. Bakt. I. Abt. **21**, 913.
- Lösch, F. 1875. Massenhafte Entwicklung von Amöben im Dickdarm. Arch. path. Anat. **65**, 196.
- Loughlin, E. H. en Stoll, N. R. 1946. An efficient concentration method. (A.E.X.) for detecting helminthic ova in feces. (modification of the Telleman technic) Am. Jour. Trop. Med. **26**, 517.
- Lutz, A. 1891. Zur Kenntniss der Amöben-Enteritis und Hepatitis. Centr. bl. Bakt. **10**, 241.
- Mc. Carrison, R. 1909. Observations on the amoebae in the intestines of persons suffering from goitre in Gilgit. Quart. Journ. Micro. Sc. **53**, 723.
- Mc. Intosh, J. A. 1931. Abstract of discussion. Jour. Am. Med. Ass. **96**, 170.
- Magath, T. B. 1934. The laboratory diagnosis of amebiasis. Idem. **103**, 1219.
- 1935. The coccidia of man. Am. Jour. Trop. Med. **15**, 91.
- Magath, T. B. en Meleney, H. E. The complement fixation reaction for amebiasis comparative tests performed by two laboratories. Idem. **20**, 211.
- Magath, T. B. en Ward, C. B. 1928. Laboratory methods of diagnosing amebiasis. Am. Jour. Hyg. **8**, 840.
- Malmsten, P. H. 1857. Infusorien als Intestinal-Thiere beim Menschen. Arch. path. Anat. **12**, 302.
- Manson-Baċr, P. 1944. Manson's tropical diseases. Londen.
- Mathis, C. 1914. Procédé rapide de fixation et de coloration pour reconnaître aisément les kystes d'amibes dans les selles. Bull. Soc. Med. Chir. Indochine. **5**, 182.
- Mathis, G., Leger, M. en Juvėau-Dubreuil, 1911. Du taux des eosinophiles dans la dysenterie amibienne. Idem. **2**.
- Mathis, C. en Mercier, L. 1916. L'amibe de la dysenterie. Bull. Inst. Pasteur. **14**, 641.

- Mazotti, L. 1944. Observaciones en 10 individuos parasitados con *Taenia saginata*. Presencia de Luevecillos en la region perianal y en otras regiones cutaneas. Ref. Trop. Dis. Bull. **42**, 398.
- Meleney, H. E. en Frye, W. W. 1933. A comparison of five strains of *Entamoeba histolytica* with reference to their pathogenicity for kittens. Am. Jour. Hyg. **18**, 637.
- Miyagawa, Y. 1913. Beziehungen zwischen Schistosomiasis japonica und der Dermatitis, unter Berücksichtigung der Methode der Auffindung von Parasiteniern in der Faeces und Beiträge zur Kenntnis der Schistosomum-Infektion. Centr. bl. Bakt. Orig. **69**, 132.
- Nelson, E. C. 1940. An intestinal content cultivation medium. I. Methods of preparation and use and data obtained in the cultivation of *Balantidium coli* from the pig. Am. Jour. Trop. Med. **20**, 731.
- Nöller, W. 1921. Ueber einige wenig bekannten Darmprotozoen des Menschen und ihre nächsten Verwandten. Arch. Schiffs. Trop. Hyg. **25**, 3.
- Otto, G. F., Hewitt, R. en Strahan, D. 1941. A simplified levitation method of fecal examination for protozoan cysts and hookwormeggs. Am. Jour. Hyg. **33**, D, 32.
- Paulson, M. en Andrews, J. M. 1938. Complement fixation in amebiasis. A comparative evaluation in amebiasis. Arch. Int. Med. **61**, 560.
- Payne, A. M. M. 1945. Amoebic dysentery in Eastern India. Lancet. Febr. **17**, 206.
- Pepper, W. 1908. A new method for examination of the feces for the ova of *Uncinaria*. Jour. Med. Research. **13**, 75.
- Peñerelli, P. 1928. Het zoeken naar wormeieren met behulp van cederolie preparaten. Mededeelingen Dienst Volksgez. Ned. Ind. **17**, 676.
- Podyapolskaya, V. P. 1943. Diagnosis of helminthic infestations by the examination of scrapings from the perianal folds. Ref. Trop. Dis. Bull. **41**, 301.
- Poorten, F. H. ter, 1928. Beiträge zur Kenntnis der Darmprotozoen in den Niederlanden, ins besondere der *Entamoeba histolytica*. Centrbl. Bakt. Orig. **109**, 406.
- Prowazek, S. von, 1904. Untersuchungen über einige parasitischen Flagellaten. Arb. kaiserl. Gesundh. Amtes. **21**, 1.
- 1911. Beitrag zur *Entamoeba*-Frage. Arch. Protistenk. **22**, 345.
- Quincke, H. en Roos, E. 1893. Ueber Amöbenenteritis. Berl. klin. Wochenschr. **30**, 1089.
- Reichenow, E. 1926. Zur Frage des Sitzes von *Entamoeba histolytica* im Darm. Arb. Reichsges. amt. **57**, 136.
- 1931. Die pathogenetische Bedeutung der Darmprotozoen des Menschen. Zentrbl. Bakt. Orig. **122**, 195.
- Riegel, W. 1918. Ein einfaches Verfahren zur Schnellfärbung von Ruhrämöben zu diagnostischen Zwecken. Arch. Schiffs Trop. Hyg. **22**, 217.
- Rivas, D. de, 1928. An efficient and rapid method of concentration for detection of ova and cysts of intestinal parasites. Am. Jour. Trop. Med. **8**, 63.

- Rodenhuis, Y. 1921. Handleiding bij het onderzoek naar Protozoën in de menselijke faeces voorkomend. Amsterdam.
- 1924. Over het bestaan van verschillende rassen binnen de soort *Entamoeba histolytica* Schaudinn. 's Gravenhage.
- Rothmann, M. M. en Epstein, H. J. 1941. Clinical symptoms associated with the so-called non-pathogenic ameba. Jour. Am. Med. Ass. **116**, 694.
- St. John, J. H. 1926. Practical value of examination for *Endamoeba histolytica* by culture. Jour. Am. Med. Ass. **86**, 272.
- Sawitz, W. G. en Faust, E. C. 1942. The probability of detecting intestinal protozoa by successive stool examinations. Am. Jour. Trop. Med. **22**, 131.
- Sawitz, W., Odom, V. L. en Lincicome, O. R. 1939. The diagnosis of Oxyuriasis. Publ. Health. Rep. **54**, 1148.
- Schaudinn, F. 1903. Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. kaiserl. Gesundh. Amte. **19**, 547.
- Schiff, F. 1919. Zur mikroskopischen Diagnose der Amöbenruhr. Erfahrungen in der asiatischen Türkei. Arch. Schiffs Trop. Hyg. **23**, Beiheft 4, 113.
- Schuberg, A. 1893. Die parasitischen Amöben des menschlichen Darmes. Centrbl. Bakt. **13**, 598, 654 en 701.
- Schuchmann en Kieffer 1922. Ueber den Nachweis von Parasiteneiern im Kote der Haustiere. Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1922, 357.
- Sheather, A. L. 1923. The detection of wormeggs in the faeces of animals, and some experiments in the treatment of parasitic gastritis in cattle. Jour. Comp. Pathol. **36**.
- Sherwood, N. P. en Heathman, L. 1932. Further studies on the antigenic properties of pathogenic and free-living amebas. II. Complement fixation in amebic dysentery. Am. Jour. Hyg. **16**, 124.
- Shortt, H. E. 1945. Exhibit to show the contrast between concentrated and unconcentrated preparations of protozoal cysts in faeces. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. **39**, 267.
- Sluiter, C. Ph., Swellengrebel, N. H. en Ihle, J. E. W. 1942. De dierlijke parasieten van den mensch. Amsterdam.
- Smalt, F. H. 1944. Onderzoek naar de frequentie van *Enterobius vermicularis* (Oxyuris) bij vier groepen kinderen te Amsterdam. Ned. Tijdschr. Gen. **88**, 240.
- 1944. Onderzoek naar het voorkomen van *Enterobius vermicularis* (Oxyuris) bij de arbeiders van een groot industrieel bedrijf te Amsterdam. Idem **88**, 483.
- Smith, A. M. 1918. Measurements of and observations upon the cysts of *Entamoeba histolytica* and of *Entamoeba coli*. Ann. Trop. Med. Paras. **12**, 27.
- Snijders, E. P. 1921. Plasmolysis in amoebic cysts. Trans. 4th. Congres F.E.A.T.M. (Weltevreden).
- 1929. Amoebendysenterie en koude. Ned. Tijdschr. Gen. **73**, 3982.
- Spector, B. K. 1932. A comparative study of cultural and immunological methods of diagnosing infections with *Endamoeba histolytica*. Jour. Prevent. Med. **6**, 117.
- 1936. Significance of the small variety of *Endamoeba histolytica*. Am. Jour. Par. Hyg. **26**, 813.

- Stein, F. 1867. *Der Organismus der Infusionsthiere*. Abt. II. Leipzig.
- Stoll, N. R. 1923. An effective method of counting Hookwormmeggs in feces. *Am. Jour. Hyg.* **3**, 59.
- Svensson, R. M. 1928. A survey of human intestinal protozoa in Sweden and Finland. *Parasit.* **20**, 237.
- Svensson, R. en Linders, F. J. 1934. The chances of detecting infections with intestinal protozoa. *Acta Med. Scand.* **81**, 267.
- Swellengrebel, N. H. en Schüffner, W. A. P. 1943. Een methode ter opsporing van besmetting met *Oxyuris vermicularis*. *Ned. Tijdschr. Gen.* **87**, 1363.
- Tanami, K. 1946. A simple method of concentrating parasitic eggs. *Ref. Trop. Dis. Bull.* **10**, 105.
- Telemann, W. 1908. Eine Methode zur Erleichterung der Auffindung von Parasiteneiern in den Faeces. *Deut. med. Wochenschr.* **34**, 1510.
- Thomas, W. S. en Baumgartner, E. A. 1925. Stool examination for protozoa in eleven hundred inmates of New York State Institution. *Jour. Am. Med. Ass.* **85**, 1725.
- Thomson, J. G. 1926. Pseudoparasites in the faeces of man. *Proc. Roy. Soc. Med.* **19** (sect. Trop. Dis. a Paras.), 14.
- Thomson, J. G. en Robertson, A. 1926. Fish as the source of certain coccidia recently described as intestinal parasites of man. *Brit. Med. Jour.* **1**, 282.
- Tsuchiya, H. 1945. Survival time of trophozoites of *Endamoeba histolytica* and its practical significans in diagnosis. *Am. Jour. Trop. Med.* **25**, 277.
- Ujihara, K. 1914. Studien über die Amöbendysenterie. *Zeitschr. Hyg.* **77**, 329.
- Vajda, Th. 1922. A new method for detecting the eggs of parasites in feces. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.* **14**, 534.
- Walker, E. L. en Sellards, A. W. 1913. Experimental entamoebic dysentery. *Philippine Jour. Sci.* **8**, 253.
- Watson, J. M. 1945. The effect of urine on *Entamoeba histolytica*. *Ann. Trop. Med. Paras.* **39**, 101.
- Weiss, E. en Arnold, L. 1934. Complement fixation test for amebiasis. *Am. Jour. Digest Dis. Nutrit.* **1**, 231.
- 1934. The specificity of the complement fixation test for amebiasis. *Idem* **1**, 548.
- Wenrich, D. H. 1937. Studies on *Dientamoeba fragilis* II. Report of unusual morphology in one case with suggestions as to pathogenicity. *Jour. Paras.* **23**, 183.
- Wenyon, C. M. 1916. The protozoological findings in 556 cases of intestinal disorder from the Eastern Mediterranean War Area. *Jour. Roy. Army Med. Corps* **26**, 445.
- 1926. *Potozoology*. Londen en New York.
- Wenyon, C. M. en O'Connor, F. W. 1917. *Human Intestinal Protozoa in the Near East*. Londen.
- Whittingham, H. E. 1923. The pathogenicity and treatment of flagellate dysentery. *Brit. Med. Jour.* No. 3254, blz. 799.

- Willis, H. H. 1921. A simple levitation method for the detection of Hookworm ova. Med. Jour. Austral. **8**, 375.
- Willmore, J. G. en Shearman, C. H. 1918. On the differential diagnosis of the dysenteries: The diagnostic value of the exsudate in the stools of acute amoebic and bacillary dysentery. Lancet II, 200.
- Yao, Y. T. en Ling, L. C. 1934. On the occurrence of intestinal parasites in man in different combinations. Trans. 9th. Congr. F.E.A.T.M. II, 531 (Nanking).
- Yaoita, S. 1912. Ein neues Verfahren zur Auffindung spärlicher Parasiteneier in Faeces. Deut. med. Wochenschr. **38**, 1540.
- Yorke, W. en Adams, A. R. D. 1926. Observation on *Entamoeba histolytica*. I. Development of cysts, excystation and development of excysted amoebae, in vitro. Ann. Trop. Med. and Paras. **20**, 279.

